

Université de Sherbrooke

NCOR1 et son rôle dans le maintien de la cellule épithéliale du côlon

Par
Mia Lecours
Programme de biologie cellulaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)
en biologie cellulaire

Sherbrooke, Québec, Canada
Mai, 2021

Membre du jury d'évaluation
Pr. François Boudreau, Programme de biologie cellulaire
Pr. Claude Asselin, Programme de biologie cellulaire
Pr. Abdelaziz Amrani, Programme d'immunologie

Mia Lecours, 2021

Résumé

NCOR1 et son rôle dans le maintien de la cellule épithéliale du côlon

Par Mia Lecours

Programme de biologie cellulaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maîtrise en sciences (M.Sc.) en biologie cellulaire, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Le « Nuclear receptor corepressor 1 (NCOR1) » est une composante centrale du complexe de protéines impliquées dans la répression de la transcription. NCOR1 est connu pour son rôle dans le contrôle de l'activation des macrophages via son action répressive de plusieurs gènes pro-inflammatoires. Par technique de micro-puces, une augmentation de l'expression des transcrits associés au gène *Ido1* a été prédite chez les souris invalidées pour NCOR1 (*Ncor1*^{ΔCEI}). De plus, de récentes études ont montré que NCOR1 agirait comme protecteur lorsque les souris sont soumises à un stress inflammatoire aigu. Notre étude vise donc à étudier les impacts de la perte de NCOR1 en condition de colite chronique. Nous avons premièrement étudié l'état histologique des souris au terme d'un traitement chronique au DSS via plusieurs colorations tissulaires. Nous avons montré que la perte de NCOR1 dans les cellules épithéliales intestinales ne cause pas plus de dommages à l'épithélium du côlon en condition de colite chronique. Cependant, les résultats obtenus dans cette condition montrent que la perte de NCOR1 dans les CEIs entraîne la diminution du nombre de cellules caliciformes, suggérant alors un rôle possible de NCOR1 dans la production de ce type cellulaire. Nous avons également confirmé la prédiction d'augmentation de l'expression des transcrits du gène *Ido1* chez les souris invalidées pour NCOR1 au terme du traitement chronique au DSS. Cependant, cette augmentation ne reflète pas l'activité enzymatique de IDO1 au point de vue systémique. Un autre aspect de ce projet de recherche visait à mieux comprendre le rôle de NCOR1 dans un épithélium isolé de la composante stromale. Pour ce faire, nous avons généré des lignées de colonoïdes de souris contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI}. Nous avons montré que la perte de NCOR1 entraîne une diminution de la taille des colonoïdes en culture *ex vivo*, ainsi qu'une perte spontanée de l'expression des marqueurs associés aux cellules caliciformes. Cependant, nous n'avons pas observé une augmentation spontanée de l'expression de *Ido1* dans ces conditions, suggérant que cette enzyme ne serait pas une cible directe de NCOR1. De plus, une étude de séquençage du transcriptome des colonoïdes a révélé que la perte de NCOR1 pourrait entraîner un changement dans la différenciation des cellules épithéliales intestinales. Nos résultats suggèrent un nouveau rôle de NCOR1 dans la différenciation des cellules épithéliales intestinales.

Mots clés : NCOR1, IDO1, inflammation intestinale chronique, prolifération, différenciation

Table des matières

Résumé	i
Table des matières	ii
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	ix
Liste des abréviations	x
Remerciements.....	xv
Chapitre 1 : Introduction.....	1
1. Le tube digestif.....	1
1.1 L'intestin grêle	1
1.2 L'anatomie du côlon.....	3
1.3 Le renouvellement de l'épithélium intestinal	4
1.4 Les cellules différenciées du côlon	5
1.4.1 Les cellules absorbantes : les colonocytes	5
1.4.2 Les cellules caliciformes et les couches de mucus.....	6
1.4.3 Les cellules entéroendocrines.....	7
1.5 Autres caractéristiques du côlon.....	7
2. Les maladies inflammatoires intestinales.....	9
2.1 Caractéristiques des maladies inflammatoires intestinales	9
2.2 Modèle expérimental de colite aigüe et chronique.....	12
3. La transcription, principe général.....	13
4. La découverte du « Nuclear Receptor Corepressor (NCOR) »	17
4.1 La structure de NCOR1	17
4.2 Les partenaires d'interaction de NCOR1	19
4.3 NCOR1 et la signalisation cellulaire	21
4.4 NCOR1 et son rôle dans la prolifération et la différenciation cellulaire.....	23

5.	Le rôle de NCOR1 dans le développement murin	24
5.1	Délétion constitutive de <i>Ncor1</i>	24
5.2	Génération du modèle <i>Ncor1</i> ΔExon11 par délétion conditionnelle.....	24
5.2.1	NCOR1 et son rôle dans les muscles.....	25
5.2.2	NCOR1 et son rôle dans le tissu adipeux	25
5.3	NCOR1 et son rôle connu dans l'épithélium intestinal.....	26
5.3.1	L'UDP-glucuronosyltransférase.....	26
5.3.2	L'hyperbilirubinémie néonatale sévère	26
5.3.3	Délétion constitutive de l'UGT1A1	27
5.3.4	Le rôle de NCOR1 dans l'HNS.....	27
5.4	NCOR1 et son rôle protecteur de l'épithélium intestinal	28
6.	Le métabolisme du tryptophane	28
6.1	L'indoleamine-2,3-dioxygénase.....	29
6.2	IDO1 dans le système digestif.....	30
6.3	Le rôle de IDO1 dans l'inflammation intestinale	31
	Hypothèse de recherche et objectifs.....	32
	Chapitre 2 : Matériel et méthodes	33
1.	Expériences réalisées avec le modèle de souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI}	33
1.1	Génération du modèle <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI}	33
1.2	Génotypage des souris.....	33
1.3	Établissement de la colite chronique chimique chez les souris.....	34
1.4	Fixation des tissus au formaldéhyde, inclusion dans la paraffine, coupe et coloration et photographie des tissus.....	35
1.5	Score histologique des souris malades	36
1.6	Qualification et quantification de la fibrose	37
1.7	Décompte des cellules caliciformes et mesure de la profondeur des cryptes des côlons des souris malades.....	38
2.	Expériences réalisées avec les colonoïdes.....	38
2.1	Établissement des lignées de colonoïdes.....	38

2.2	Passage des colonoïdes.....	40
2.3	Congélation des colonoïdes.....	41
2.4	Décongélation des colonoïdes.....	41
2.5	Capture d'image des colonoïdes en contraste de phase	41
2.6	Mesure du diamètre des colonoïdes	42
2.7	Récolte du milieu de culture des colonoïdes	42
2.8	Récolte d'ARNs des colonoïdes.....	42
2.9	Récolte et préparation de protéines de colonoïdes	43
3.	Quantification de la Kynurénine par ELISA.....	43
4.	Quantification du Tryptophane par ELISA.....	44
5.	Extraction et dosage des ARNs totaux.....	45
6.	Réaction de transcription inverse	46
7.	PCR quantitatif en temps réel.....	46
8.	Immunobuvardage.....	47
9.	Analyses statistiques.....	49
Chapitre 3 : Résultats.....		50
1.	Rôle de NCOR1 dans la réponse inflammatoire en condition chronique	50
1.1	Établissement de la colite chronique	50
1.2	Confirmation de la délétion de <i>Ncor1</i> dans l'épithélium intestinal.....	53
1.3	Étude histologique de l'épithélium du côlon des souris au terme de la colite chronique	54
1.3.1	Coloration à l'hématoxyline et éosine.....	54
1.3.2	Coloration au trichrome de Masson	58
1.3.3	Quantification des cellules caliciformes.....	60
1.4	Expression et activité de l'indoleamine-2,3-dioxygénase	62
2.	Fonctions de NCOR1 dans le contexte d'un épithélium intestinal isolé en culture ex vivo	64
2.1	Établissement et caractérisation des lignées de colonoïdes.....	64

2.2	Caractérisation génétique des lignées de colonoïdes	66
Chapitre 4 : Discussion		68
1.	Rôle de NCOR1 dans la réponse inflammatoire en condition chronique	69
1.1	La perte de NCOR1 rend les souris plus susceptibles au traitement DSS en condition chronique	69
1.2	Confirmation de la délétion de <i>Ncor1</i> dans l'épithélium intestinal.....	71
1.3	La perte de NCOR1 n'entraîne pas plus de dommages à l'épithélium intestinal au terme d'une colite expérimentale chronique	71
1.4	La manifestation de la fibrose n'est pas plus prononcée au terme de la colite chronique chez les souris déficientes en <i>Ncor1</i> au niveau de l'épithélium intestinal ..	73
1.5	NCOR1 supporte la production de cellules caliciformes en condition de colite expérimentale chronique	75
1.6	Les souris mutantes pour <i>Ncor1</i> montrent une augmentation des transcrits de <i>Ido1</i> au terme d'un traitement chronique au DSS	77
1.7	L'augmentation des transcrits de <i>Ido1</i> dans les CEIs n'influence pas le métabolisme du tryptophane de façon systémique.....	79
1.8	Perspectives de l'objectif 1.....	80
2.	Fonctions de NCOR1 dans le contexte d'un épithélium intestinal isolé en culture <i>ex vivo</i>	80
2.1	Caractérisation phénotypique et génétique des lignées de colonoïdes.....	80
2.1.1	La perte de <i>Ncor1</i> est associée à une diminution de la croissance des colonoïdes.....	80
2.1.2	L'expression des transcrits du gène <i>Muc2</i> est diminuée dans les colonoïdes en culture	81
2.1.3	L'expression des transcrits <i>Ido1</i> n'est pas affectée par la perte de <i>Ncor1</i> chez les colonoïdes.....	83
2.2	Perspectives de l'objectifs 2	85
Chapitre 5 : Conclusions.....		87
Chapitre 6 : Perspectives		88

Références	93
ANNEXES	108
Figures supplémentaires	108
Tableaux supplémentaires	111
License pour l'utilisation des figures	135

Liste des figures

Introduction

Figure 1 : L'anatomie de l'intestin grêle et du côlon.....	3
Figure 2 : Les corégulateurs transcriptionnels ont un impact sur l'activation de la transcription de gènes cibles en fonction des signaux environnementaux et des besoins cellulaires.....	16
Figure 3 : Schéma des domaines fonctionnels de NCOR1.....	19
Figure 4 : Le « Nuclear Receptor Corepressor 1 (NCOR1) » fait partie d'un grand complexe de répression.....	20
Figure 5 : Mécanisme de dé-répression.....	22
Figure 6 : Voie de la kynurénine.....	30

Matériel et méthodes

Figure 7 : Établissement de la colite chronique expérimentale par plusieurs cycles d'introduction du DSS dans l'eau de boisson.....	35
--	----

Résultats

Figure 8 : L'inactivation de <i>Ncor1</i> dans les CEIs entraîne une perte de poids plus importante lors d'un traitement chronique au DSS.....	52
Figure 9 : La délétion de <i>Ncor1</i> au niveau de l'épithélium colonique est conservée en condition de colite chronique.....	53
Figure 10 : Les souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI} mâles ne montrent pas plus de dommages à l'épithélium du côlon que les souris contrôles au terme d'un traitement chronique au DSS.....	55
Figure 11 : Les souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI} femelles ne montrent pas plus de dommages à l'épithélium du côlon que les souris contrôles au terme d'un traitement chronique au DSS.....	57
Figure 12 : La perte de NCOR1 au niveau de l'épithélium intestinal n'entraîne pas une formation de fibrose plus importante au terme d'un traitement chronique au DSS.....	59
Figure 13 : NCOR1 supporte la production des cellules caliciformes en condition de colite chronique.....	61

Figure 14 : Les souris *Ncor1*^{ΔCEI} montrent une augmentation de l'expression colonique des transcrits de *Ido1* sans impact sur l'activité de l'enzyme au point de vue systémique.....63

Figure 15 : La perte de *Ncor1* est associée à une diminution de la croissance des colonoïdes en culture *ex vivo*.....65

Figure 16 : L'expression de *Ido1* en culture *ex vivo* n'est pas différente entre les colonoïdes contrôles et ceux invalidée pour *Ncor1*.....67

Figures supplémentaires en annexes

Figure 17 : La perte de *Ncor1* suggère une augmentation de l'expression des transcrits de *ido1* en début de stimulation à l'IL-1β dans les colonoïdes.....108

Figure 18 : La perte de *Ncor1* influence l'expression de *Ido1* dans un épithélium isolé lors d'une stimulation à l'INF-γ.....109

Figure 19 : La perte de *Ncor1* entraîne une induction des transcrits du gène *Arg2* chez les animaux *Ncor1*^{ΔCEI} au terme de la colite chronique et dans un épithélium isolé en culture *ex vivo*.....110

Liste des tableaux

Matériel et méthodes

Tableau 1 : Protocole de PCR semi-quantitatif pour génotypage.....	34
Tableau 2 : Séquences des amorces pour le génotypage.....	34
Tableau 3 : Grille d'évaluation de la sévérité de la maladie.....	37
Tableau 4 : Liste des amorces spécifiques utilisées pour l'amplification des transcrits.....	47
Tableau 5 : Protocole d'amplification des transcrits par PCR quantitatif en temps réel.....	47
Tableau 6 : Dilution des anticorps utilisés.....	49

Tableaux supplémentaires en annexe

Tableau 7 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures <i>ex vivo</i> de colonoïdes provenant de souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI} à 3 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3).....	111
Tableau 8 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures <i>ex vivo</i> de colonoïdes provenant de souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI} à 3 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3).....	120
Tableau 9 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures <i>ex vivo</i> de colonoïdes provenant de souris <i>Ncor1</i> ^{ΔCEI} à 3 jours et 6 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3 (jour 3) et (n = 3) (Jour 6)).....	129

Liste des abréviations

Symbol :

°C	Degré Celsius
α	Alpha
β	Bêta
γ	Gamma
ε	Epsilon
κ	Kappa
Δ	Delta
%	Pourcentage
<	Plus petit
\leq	Plus petit ou égal
>	Plus grand
\geq	Plus grand ou égal
\pm	Plus ou moins
rpm	Rotation par minute
ng	Nanogramme
μ g	Microgramme
g	Gramme
μ l	Microlitre
ml	Millilitre
L	Litre
∞	Infini
mM	Millimolaire
M	Molaire
n	Nombre de réplica
n. s.	Non significatif
nm	nanomètre
mg/ml	Milligramme par millilitre
ng/ml	Nanogramme par millilitre
ng/ μ l	Nanogramme par microlitre
μ g/ml	Microgramme par millilitre
μ g/ μ l	Microgramme par microlitre
U/ml	Unité par millilitre
μ m	Micromètre
m/v	Masse par volume
h	heure
3D	3 dimensions
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
AP1	<i>Activator protein1</i>
<i>Arg1</i>	Arginase 1
<i>Arg2</i>	Arginase 2

ARN	Acide ribonucléique
<i>Atoh1</i>	<i>Atonal homolog 1</i>
AOM	Azoxyméthane
AR	Acide rétinoïque
BCA	Acide bicinchoninique
BEC	<i>S</i> -(2-bromoethyl)-L-cystéine
BMP	<i>Bone morphogenetic protein</i>
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
CAMKII	Protéine kinase Ca ²⁺ /calmoduline-dépendante
CAT	Transporteurs des acides aminés cationiques
CD	Cellules dendritiques
CEI	Cellules épithéliales intestinales
ChIP	Immunoprécipitation de chromatine
CHRD1	<i>Chordin-like 1</i>
CO ₂	Dioxyde de carbone
CoA	Coactivateur
CoR	Corépresseur
CoRNR	<i>Co-repressor nuclear receptor</i>
Cxcl1	<i>Chemokine (c-x-c motif) ligand 1</i>
DAD	<i>Deacetylase activation domain</i>
DCS	<i>Deep Crypt Secretory</i>
DEPC	Diéthyle de pyrocarbonate
DMEM	<i>Dubelco's modified Eagles's medium</i>
dNTPs	<i>Deoxyribonucleotide triphosphate</i>
D-PBS	<i>Dulbecco's phosphate buffered saline 1X</i>
DSS	<i>Dextran sulfate sodium</i>
DTT	Dithiothreitol
E2	17β-estradiol
ECL	Enhanced chemiluminescence
EDTA	Éthylène-diamine-tetra-acétique
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
ERα et β	Récepteur à l'œstrogène α et β
FBS	<i>Fœtal bovine serum</i>
FXR	<i>Farnesoid X receptor</i>
GREM1/2	<i>Gremlin 1 et 2</i>
GPS2	<i>G protein pathway suppressor 2</i>
HAT	Histone acétylase
HCl	Acide chlorhydrique
HDAC	Histone déacétylase
Hes	<i>Hairy/enhancer of split 1</i>
HID	<i>Histone interaction domain</i>
H & E	Héματοxyline et éosine
HNS	Hyperbilirubinémie néonatale sévère
<i>Ido1</i>	<i>Indolamine-2,3-dioxygénase 1</i>
IDT	<i>Integrated DNA technologies</i>
IL-1β	Interleukine-1β

IL-18BP	<i>IL-18 binding protein</i>
INF- γ	Interféron- γ
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
KLF4	<i>Krüppel-like factor 4</i>
K ₂ PO ₄	Phosphate de potassium
KYN	Kynurénine
Lgr5	<i>Leucine-rich repeat containing G-protein coupled receptor</i>
LPS	Lipopolysaccharides
LXR	<i>Liver X receptor</i>
MII	Maladies inflammatoires intestinales
<i>Muc2</i>	Mucine 2
NEB	New England Biolabs
NaCl	Chlorure de sodium
NaF	Fluorure de sodium
Na ₂ HPO ₄	Sodium phosphate dibasique
NaOH	Hydroxyde de sodium
<i>Ncor1</i>	Nuclear receptor corepressor 1
NEUROG3	Neurogenin 3
NF- κ B	<i>Nuclear factor-κB</i>
NRIP1	<i>Nuclear receptor-interacting protein 1</i>
NO	Oxyde nitrique
NOS	Oxyde nitrique synthase
pb	Paire de bases
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PFA	Paraformaldéhyde
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PLC	Phospholipase C
PPAR- γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptors-γ</i>
PVDF	<i>Polyvinylidene fluoride</i>
PXR	<i>Pregnane X receptor</i>
qPCR	PCR quantitative en temps réel
RAR- α	Récepteur à l'acide rétinoïque- α
RD	<i>Repression domains</i>
Reg4	<i>Regenerating islet-derived protein 4</i>
RGB	<i>Red, green and blue</i>
RHT	Récepteur à l'hormone thyroïdienne
RID	<i>Nuclear receptor interaction domain</i>
RIPA	<i>Radio-Immunoprecipitation Assay</i>
ROR α	<i>Retinoic acid-related orphan receptor α</i>
<i>Rspo3</i>	<i>R-spondin 3</i>
RT	<i>Reverse transcriptase</i> (Transcriptase inverse)
RXR	<i>Retinoid-X receptor</i>
SAH	S-adénosylhomocystéine
SAM	Adénosylméthionine
SCFA	<i>Short-chain fatty acid</i>

SDS	Sulfate de dodécyle sodium
α -SMA	α -smooth muscle actin
SMRT	Silencing mediator receptor corepressor
SNC	Système nerveux central
TA	Trans-amplifying
TBL1	Transducing β -like 1
TBLR1	TBL-related 1
TBP	TATA-box-binding protein
TBS	Tris-buffered saline
TDO	Tryptophane-2,3-dioxygénase
TFF3	Trefoil factor 3
TGF- β	Transforming growth factor- β
TLR	Toll-like receptor
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TNBS	Acide-2,4,6-Trinitrobenzenesulfonique
TRP	Tryptophane
UBCH5	Ubiquitin-conjugating enzyme H5
UGT1A1	UDP-glucuronosyltransférase 1A1

*Le succès n'est pas final, l'échec n'est pas fatal...
C'est le courage de continuer qui compte*

-Winston Churchill-

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier les membres du jury d'évaluation pour avoir pris le temps de lire et corriger mon mémoire. Un merci également au Pr. Jean pour ses conseils et sa participation au sein de mon comité d'encadrement.

Je voudrais également remercier le Pr. François Boudreau de m'avoir donné l'opportunité de travailler au sein de son équipe de recherche dans le cadre de cette maîtrise. Au cours de cette dernière j'ai pu développer mon sens critique, ma curiosité scientifique, mes compétences en communication, mais majoritairement ma persévérance. Merci pour ta générosité, ta disponibilité, ton écoute et tout spécialement pour tes mots d'encouragements. Je peux personnellement affirmer que chacune de nos conversations, qu'elles soient seulement de quelques minutes ou de quelques heures, me redonnaient toujours la motivation de continuer dans la direction initiale ou encore de me rebrousser les manches lors de moments de démotivation. Tu as toutes les qualités d'un mentor qui permet à ses étudiants de donner le meilleur d'eux-mêmes afin qu'ils se dépassent et ressortent fiers de toutes les épreuves traversées au travers de ce monde que sont les études graduées.

Un merci spécialement à Christine et Jean-Philippe, les assistants de recherche avec qui j'ai eu la chance de travailler au cours de cette maîtrise. Merci à toi Christine pour ta patience, ton écoute, ta générosité, ta disponibilité et tes conseils. Tu as su trouver les mots et les trucs qui m'ont permis de prendre de plus en plus confiance en moi. Un merci également à Jean-Philippe. Même si ce n'a été que pour quelques mois, ton mentorat a grandement marqué mon passage dans le laboratoire. Un merci également à tous les autres membres du laboratoire; Sarah, Dianne, Ariane et Romain. Sans vous mon expérience aux études graduées n'aurait pas été la même. Que ce soit lors d'échanges scientifiques, lors de conversation dans le but de changer le monde actuel ou tout simplement pour parler de la pluie et du bon temps, ce fut pour moi toujours un plaisir de discuter avec vous. Rires et plaisir ont permis d'agréer l'environnement de travail rendant mon expérience aux études graduées plus positive et constructive. À votre façon, vous avez contribué à mon développement scientifique et personnel. Un merci tout spécial à Ariane, sans qui ce projet n'aurait pas pu être possible.

Merci également à tous les étudiants et professeurs du département d'immunologie et de biologie cellulaire. L'expérience et la générosité de chacun fait en sorte que le PRAC est un environnement où on peut toujours échanger des idées et trouver une solution à une impasse ou tout simplement pour une précision dans l'exécution d'une nouvelle technique.

Finalement, merci à ma famille. Merci pour votre support et vos encouragements au cours de ces dernières années. Vous avez su croire en moi dans les moments de découragements. Merci également à mes amies Geneviève, Caroline et Chloë. Merci d'avoir été là pour m'écouter, me comprendre, mais majoritairement d'avoir fait de ma vie extra-scientifique ce qu'elle est.

Chapitre 1 : Introduction

1. Le tube digestif

Le tube digestif possède plusieurs fonctions dont l'absorption et la digestion des aliments, la sécrétion d'hormones ainsi que le déclenchement d'une réponse immunitaire en cas de stress. Sa structure unique permet de maximiser les fonctions associées à cet organe, permettant ainsi l'homéostasie. Les parois de l'intestin peuvent être séparées en quatre grandes couches de tissus soient; 1) la muqueuse, 2) la sous-muqueuse, 3) la musculuse et 4) la séreuse. La première couche comprend l'épithélium intestinal, la *lamina propria* et la *muscularis mucosae*. La muqueuse, composée d'une mince couche de tissus conjonctifs, contient les vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que le système nerveux utile à la muqueuse. De plus, cette première couche contient les cellules du système immunitaire inné et adaptatif. De son côté, la sous-muqueuse est majoritairement composée de tissus conjonctifs importants pour les nerfs parasympathiques. Vient ensuite la musculuse, composée d'une couche plus épaisse de muscles lisses. La dernière couche de tissu composant les parois du tube digestif est la séreuse. Il s'agit d'une épaisse couche de tissu permettant de séparer l'intestin de la cavité péritonéale (Figure 1) (Mowat et Agace, 2014).

L'intestin est séparé en deux segments majoritaires soient l'intestin grêle et le côlon. Chacun de ces segments possède ses caractéristiques et fonctions particulières. Par contre, l'intestin complet doit avoir la capacité d'offrir une barrière protectrice contre les éléments pathogènes par l'entremise de l'épithélium (variation de pH, population de bactéries commensales, etc.) (Beumer et Clevers, 2020).

1.1 L'intestin grêle

Cette partie du tube digestif débute au niveau du pylore de l'estomac et se prolonge jusqu'à la valve iléo-caecale qui s'ouvre sur le colon. Son rôle principal est l'absorption et la digestion des nutriments du bol alimentaire. Sa longueur de six mètres chez l'humain peut être divisée en trois grands segments; le duodénum, le jéjunum et l'iléon (Mowat et Agace, 2014). Pour augmenter sa surface de contact avec le bol alimentaire, l'épithélium de

l'intestin grêle est organisé sous forme de structures appelées villosités qui se projettent dans la lumière intestinale. Une autre stratégie adoptée par l'intestin grêle afin d'augmenter sa surface de contact avec le bol alimentaire est la présence d'une bordure en brosse à la surface apicale des cellules épithéliales des villosités. Ces deux caractéristiques permettent une meilleure absorption et digestion des aliments tout le long de l'intestin grêle (Mowat et Agace, 2014).

Chacune des villosités contient à leur base de 5 à 6 cryptes de Lieberkühn. Ces dernières se présentent sous forme d'invaginations et permettent le renouvellement complet de l'épithélium tous les 4 à 5 jours. Ce renouvellement est assuré par la présence de cellules souches localisées au fond de ces cryptes (Mowat et Agace, 2014). Ces cellules souches produisent des cellules filles qui, après quelques divisions, mènent à la production de cellules de transition. Durant leur migration le long de l'axe crypte-villosité, ces cellules sortent du cycle de division cellulaire et entame un programme de différenciation. Une fois différenciées, la plupart des cellules migrent jusqu'à l'apex de la villosité où elles se détachent et meurent par anoïkose. Il existe également un type de cellule différenciée qui migre plutôt vers le bas des cryptes. En effet, contrairement à tous les autres types, les cellules de Paneth migrent vers le bas des cryptes où elles ont plusieurs fonctions (Beumer et Clevers, 2020).

Il existe six types de cellules différenciées au sein de l'épithélium de l'intestin grêle réparties en deux catégories; les cellules absorbantes et les cellules sécrétrices. La première catégorie comprend les entérocytes qui sont responsables de l'absorption de nutriments et de l'eau ainsi que les cellules M, responsables de l'internalisation des antigènes permettant leur reconnaissance par les lymphocytes intraépithéliaux (Kanaya *et al.*, 2012). La seconde catégorie contient les cellules caliciformes sécrétrices de mucus (communément connues sous le nom de cellules à gobelet), les cellules de Paneth, responsables de la sécrétion de molécules antibactériennes et de facteurs aidant au maintien de la crypte, les cellules Tuft, stimulatrices du système immunitaire, et les cellules entéroendocrines, responsables de la production d'hormones (Beumer et Clevers, 2020).

1.2 L'anatomie du côlon

À la suite du cæcum et se terminant à l'anus, se trouve le côlon. Ce dernier segment du tube digestif, ayant une structure de cryptes intercalées dans un épithélium plat, est dépourvu de villosité. Il peut également être divisé en trois segments; le côlon ascendant (ou proximal), le côlon transverse (ou moyen) et le côlon descendant (ou distal) (Mowat et Agace, 2014). Ses rôles principaux sont la réabsorption de l'eau, la compaction et l'excrétion des restes non-digérés du bol alimentaire. Ce mouvement constant des déchets du bol alimentaire cause de l'abrasion au niveau du côlon. Ce stress imposé à l'épithélium demande donc une grande capacité de régénération (tous les 4 à 7 jours) afin de conserver une homéostasie et une fonction adéquate de cet organe.

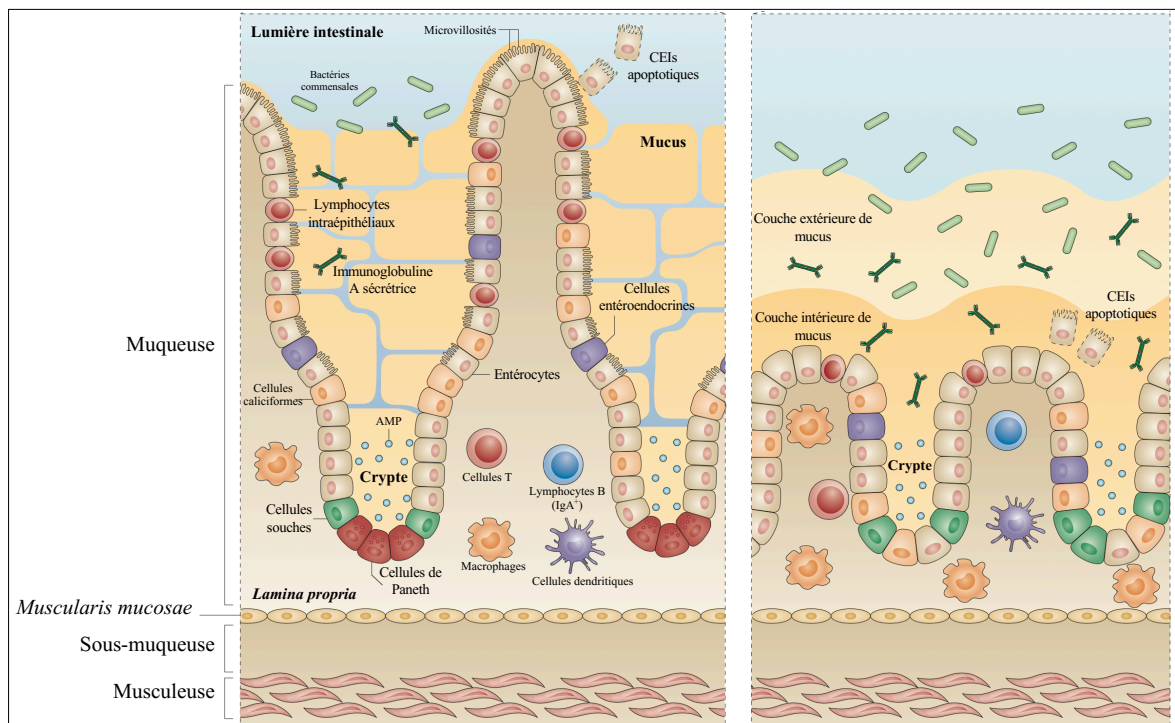


Figure 1 : L'anatomie de l'intestin grêle et du côlon. Les parois de l'intestin sont composées de 4 couches de tissus. La première couche, nommée la muqueuse, contient l'épithélium intestinal, la *lamina propria* ainsi que la *muscularis mucosae*. La sous-muqueuse est composée de tissus conjonctifs nécessaires pour les nerfs parasymphatiques. La musculeuse correspond à une couche de muscles capables de permettre le péristaltisme, mouvement constant du bol alimentaire, via l'action des muscles de l'intestin. La dernière couche, la séreuse, sert de barrière entre l'intestin et la cavité péritonéale. De plus, le tube

digestif peut être divisé en deux grands compartiments, soit l'intestin grêle et le côlon, où ces derniers montrent une structure typique aidant leurs fonctions respectives. L'épithélium de l'intestin grêle adopte une structure en axe crypte-villosité, favorisant son contact avec le bol alimentaire afin d'absorber tous les nutriments nécessaires. Le côlon quant à lui possède seulement des cryptes intercalées dans un épithélium plat, facilitant ses fonctions de compaction et d'excrétion des restes non digérés du bol alimentaire. Figure adaptée de (Mowat et Agace, 2014). Le numéro de licence pour les droits de reproduction est le 4964900742152.

1.3 Le renouvellement de l'épithélium intestinal

Le renouvellement de l'épithélium est possible grâce à la présence d'un microenvironnement présent au fond des cryptes de Lieberkühn. Ce dernier se nomme la niche et contient une grande quantité de cellules souches multipotentes. Aidée par les facteurs de croissance produits par l'épithélium, ainsi que de ceux produits par le stroma avoisinant, la niche permet aux cellules souches de maintenir une grande capacité de prolifération. Une catégorie de cellules souches cruciale pour le maintien de l'épithélium est caractérisée par l'expression à la surface du « *leucine-rich repeat containing G-protein coupled receptor (Lgr5)* » (Sasaki *et al.*, 2016) (Beumer et Clevers, 2020).

Les cellules exprimant *Lgr5* ($Lgr5^+$) ont la capacité de division asymétrique. En effet, lors de la division cellulaire, les cellules $Lgr5^+$ peuvent donner naissance à une autre cellule souche capable d'auto-renouvellement ou à une cellule qui se déplace dans un second compartiment de la crypte; le « *trans-amplifying (TA) compartment* ». Elles sont alors appelées les « *trans-amplifying (TA) cells* » ou cellules de transition (Baulies *et al.*, 2020). Après 2 à 5 divisions cellulaires, ces cellules de transition migrent vers le haut de la crypte pour se différencier (Beumer et Clevers, 2020). À ce stade de croissance cellulaire, les cellules subissent également un arrêt de leur cycle cellulaire (Sasaki *et al.*, 2016), ce qui leur permet de se différencier en fonction des signaux environnementaux et des besoins cellulaires. À noter que les cellules *TA* donnent naissance à des cellules absorbantes ou sécrétrices, tandis que ces dernières peuvent se différencier directement à partir de cellules souches (Beumer et Clevers, 2020).

D'un autre côté, la littérature évoque une autre école de pensée sur la division des cellules $Lgr5^+$. En effet, les cellules présentes au fond des cryptes pourraient se diviser plutôt de façon symétrique. En d'autres mots, chacune des cellules $Lgr5^+$ donnerait naissance à deux cellules filles capables d'auto-renouvellement. Ces deux cellules seraient alors en compétition pour l'espace alloué aux cellules dans la niche. Les cellules expulsées de la niche pourraient alors acquérir la capacité de différenciation en migrant le long de la crypte (Beumer et Clevers, 2020). Elles pourraient donc se différencier en fonction des besoins cellulaires et des signaux environnementaux.

Les trois types de cellules différenciées les plus connues au niveau de l'épithélium du côlon peuvent également être séparées en deux catégories. Les cellules absorbantes sont composées des colonocytes, tandis que les cellules sécrétrices sont composées des cellules caliciformes et des cellules entéroendocrines. De plus, contrairement à l'intestin grêle, le côlon ne possède pas de cellules de Paneth. Deux autres types de cellules sécrétrices sont présentes dans le côlon, soient les cellules M et les cellules Tuft (Beumer et Clevers, 2020).

1.4 Les cellules différenciées du côlon

1.4.1 Les cellules absorbantes : les colonocytes

Les colonocytes sont les cellules absorbantes retrouvées au niveau de l'épithélium du côlon. Tous comme les entérocytes des villosités de l'intestin grêle, les colonocytes ont une bordure en brosse sur leur surface apicale leur permettant d'augmenter la surface de contact avec les restes du bol alimentaire. Ces petites structures aident à la fonction d'absorption des nutriments qui n'auraient pas été absorbés lors des passages dans les portions antérieures du tube digestif. Cette absorption se fait au niveau de la surface apicale des colonocytes. Par la suite, les nutriments sont exportés via la région basale de ces cellules (Noah *et al.*, 2011). En plus de leur rôle d'absorption, les colonocytes sont capables de phosphorylation oxydative et oxydation des acides gras. Ces deux processus font également en sorte qu'il y a une grande consommation d'oxygène dans les environs des colonocytes. Ce phénomène crée donc un environnement hypoxique ce qui favorise la croissance des populations de bactéries anaérobiques qui convertissent les fibres présentes dans le bol alimentaire. Cette

fermentation génère ainsi des métabolites utiles au métabolisme intestinal de l'hôte. Cela signifie également que le métabolisme des colonocytes agit comme une sorte de contrôle sur les populations bactériennes du côlon (Litvak *et al.*, 2018).

1.4.2 Les cellules caliciformes et les couches de mucus

Les cellules caliciformes sont responsables de la sécrétion de molécules telles que les mucines (MUC2) et les « *trefoil factors* » (TFF3) qui contribuent à la protection de l'épithélium intestinal (Van der Sluis *et al.*, 2006). Ce type cellulaire est le plus abondant au niveau du côlon et représente 25% des cellules composant l'épithélium colonique. Le gradient de cellules caliciformes augmente en approchant l'extrémité distale du tube digestif. Cette augmentation de la quantité de cellules caliciformes permet également un meilleur mouvement des résidus non-digérés du bol alimentaire qui deviennent de plus en plus compacts au niveau du côlon.

En accord avec l'augmentation du nombre de cellules caliciformes, la couche de mucus qui entoure l'épithélium, aussi appelée glycocalyx, devient plus importante dans le côlon. Le glycocalyx est composé d'une double couche de mucus (Mowat et Agace, 2014). Cette double couche de mucus est majoritairement composée d'une mucine, MUC2, impliquée dans la formation de la substance en gel du mucus. De façon plus précise, la couche intérieure, plus dense, offre une barrière antibactérienne protectrice aux cellules de l'épithélium du côlon (Beumer et Clevers, 2020). En effet, celle-ci ne permet pas aux bactéries commensales de s'y loger (Johansson *et al.*, 2008). La couche extérieure, plus lâche, s'apparente à celle retrouvée dans l'intestin grêle (Mowat et Agace, 2014). Cette densité de mucus est moindre grâce à l'action de protéases (Johansson *et al.*, 2008) sécrétées par les bactéries commensales présentes en plus grande quantité au niveau du côlon.

Les cellules caliciformes sont également responsables de la sécrétion du « *Trefoil factor 3* (TFF3) ». Contrairement à MUC2 qui aide à la protection de l'épithélium, ce facteur favorise la régénération de l'épithélium. Lors d'une blessure à l'épithélium, TFF3 est capable d'induire la réparation de celui-ci permettant le maintien de la barrière protectrice de mucus.

TFF3 aide également à la migration des cellules au site d'inflammation, ce qui favorise la réparation de l'épithélium en cas de dommages (Mashimo *et al.*, 1996).

1.4.3 Les cellules entéroendocrines

Tout comme les colonocytes, les cellules entéroendocrines se retrouvent réparties tout le long du tube digestif, soit de l'estomac au rectum (Gribble et Reimann, 2016). De plus, contrairement aux cellules caliciformes, les cellules entéroendocrines sont les moins abondantes au sein de l'épithélium du côlon (Schonhoff *et al.*, 2004). Les cellules entéroendocrines sont fortement impliquées dans le contrôle de la physiologie de l'intestin. En effet, elles sont responsables de la sécrétion d'hormones lors de stimuli alimentaires. Cela signifie également que ce type cellulaire exerce un contrôle local de la motilité de l'intestin mais également de la sécrétion de l'insuline et de la prise de nourriture (Gribble et Reimann, 2016). Ce type cellulaire peut également être séparé en 8 sous-groupes en fonction de l'hormone qu'elles produisent : la sécrétine, la cholecystokinine, le proglucagon, le polypeptide insulino-tropique glucose-dépendant, la somatostatine, la neurotensine, la gréline et la sérotonine (Haber *et al.*, 2017) (Gribble et Reimann, 2016).

1.5 Autres caractéristiques du côlon

Comme mentionné plus haut, il n'y a pas de cellules de Paneth dans le côlon. Cela implique que l'épithélium du côlon doit utiliser des stratégies alternatives dans le but d'assurer l'intégrité de la niche épithéliale. L'une de ces stratégies est la présence d'un sous-type cellulaire dérivé des cellules caliciformes localisé au fond des cryptes; les cellules « *Paneth-like* », aussi appelées cellules *cKit⁺-Goblet* (Rothenberg *et al.*, 2012) ou « *Deep Crypt Secretory (DCS)* » (Sasaki *et al.*, 2016). Ces cellules, intercalées entre les cellules *Lgr5⁺* et exprimant le marqueur « *Regenerating islet-derived protein 4 (Reg4)* », ont la capacité de maintenir la population de cellules souches dans les cryptes de côlon (Sasaki *et al.*, 2016). Les cellules *cKit⁺-Goblet* ont la capacité de sécréter les mêmes facteurs de niche (*Dll1*, *Dll4* et « *l'Epidermal Growth factor (EGF)* ») qui sont normalement produits par les cellules de Paneth de l'intestin grêle (Rothenberg *et al.*, 2012). De plus, les cellules *DCS* ont une signature génique s'apparentant grandement aux cellules de Paneth et n'agissent pas comme précurseurs pour d'autres cellules de types sécrétrices. Leur perte en culture *ex vivo*

entraîne également un phénotype non viable dans les organoïdes de côlon, conséquence qui est également observable lors de la perte des cellules de Paneth dans les organoïdes provenant de l'intestin grêle (Sasaki *et al.*, 2016).

Même si les cellules *Reg4*⁺ produisent plusieurs facteurs normalement sécrétés par les cellules de Paneth, elles ne produisent pas de ligands Wnt (Beumer et Clevers, 2020). Une source alternative et fonctionnelle pour la production de ces ligands est le télocyte, un sous-type de cellules mésenchymateuses caractérisé par l'expression du facteur de transcription FOXL1. Les télocytes présents à proximité des cellules *Lgr5*⁺ au fond des cryptes sécrètent le ligand Wnt2b qui est un activateur de la voie canonique des Wnts, voie importante dans le maintien de l'intégrité de la niche. Ces mêmes télocytes expriment également le « *R-spondin 3 (Rspo3)* » qui est un important coactivateur de cette voie. Ces deux activateurs montrent un gradient d'expression décroissant à partir du bas vers le sommet de la crypte. Cette distribution coïncide avec leur fonction promotrice de l'état prolifératif des cellules souches au fond des cryptes, processus qui s'estompe en se déplaçant vers le haut des cryptes. Parallèlement, l'expression des inhibiteurs de cette voie (*p21*, *BMP2*, *MAD* et *CDH18*) montre un profil d'expression inverse à celui de *Wnt2b* et *Rspo3*. Ce profil d'expression correspond à la transition prolifération-différenciation des cellules migrant vers le haut de la crypte (Kosinski *et al.*, 2007) (Shoshkes-Carmel *et al.*, 2018).

Une autre voie importante dans le maintien de l'homéostasie de l'épithélium colonique est la voie des « *Bone Morphogenetic Protein (BMP)* ». L'inhibition de cette voie permet le maintien de l'état prolifératif des cellules présentes au fond des cryptes. En d'autres mots, la voie des BMPs montre une fonction inverse à celle de la voie des Wnts. En effet, les inhibiteurs de la voie des BMPs activent la voie des Wnts. De plus, certains inhibiteurs de cette voie (« *Gremlin 1 and 2 (GREM1/2)* » et « *chordin-like 1 (CHRD1)* ») sont exprimés par les myofibroblastes situés près du fond des cryptes, tandis que les activateurs de cette voie (*BMPs*, *SMAD7* et *BMP2*) sont de plus en plus exprimés vers le haut de la crypte. La voie des BMPs agit donc comme un inducteur de la différenciation des cellules épithéliales le long de la crypte du côlon (Kosinski *et al.*, 2007).

2. Les maladies inflammatoires intestinales

Les maladies inflammatoires intestinales (MII) sont la résultante de plusieurs composantes incluant la génétique de l'individu, son historique familiale, ses habitudes de vie, sa diète, mais également l'environnement dans lequel il vit. Tous ces facteurs ont une grande influence sur les risques de développement de ces maladies et influencent directement la rapidité à laquelle celles-ci se développent. Les MII les mieux décrites sont la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse. Contrairement à la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse ne touche que le côlon. Elle est également caractérisée par une inflammation qui n'affecte que la première couche de tissu du côlon, soit la muqueuse. De façon générale, la colite ulcéreuse se manifeste tout d'abord au niveau de l'anus. En s'aggravant, elle a la capacité de se propager vers le cæcum afin d'occuper toute la longueur du côlon. En plus de l'augmentation de l'étendue de la région du côlon touchée, il peut y avoir apparition d'abcès de cryptes avec le temps.

Les symptômes de la maladie peuvent être très variables. En effet, les premiers symptômes de la maladie peuvent prendre la forme de douleurs abdominales, de diarrhées, de saignements au niveau du rectum et de sensation de mauvaise évacuation. Dans les cas extrêmes, il peut y avoir le développement de complications comme des diarrhées persistantes et sanglantes, une perforation de l'intestin ou un mégacôlon toxique (inflammation sévère causant une augmentation rapide de la largeur du côlon) (Crohn's & Colitis Foundation of America). Cette maladie est également caractérisée par la présence de période de rechute (déclenchement de la réponse inflammatoire du système immunitaire, réapparition des symptômes) au travers de périodes saines tout au long de la durée de vie de la personne atteinte (Langholz *et al.*, 1994).

2.1 Caractéristiques des maladies inflammatoires intestinales

En plus des multiples symptômes associés avec les MII, un des impacts majeurs de ces pathologies est la perturbation anormale des couches de mucus (Wu *et al.*, 2018). Cela signifie également que l'apparition de sang dans les selles lors de la progression de la maladie est premièrement induite par l'érosion des couches de mucus protégeant la surface des cellules épithéliales (Qin, 2017). En effet, les patients atteints de la colite ulcéreuse montrent

une diminution de l'épaisseur de la couche de mucus. Ce phénomène est encore plus important dans les phases actives de la maladie (Strugala *et al.*, 2008). Cette diminution peut être causée par les enzymes présentes dans la lumière intestinale telles que les protéases sécrétées ayant la capacité de digérer le mucus, réduisant ainsi ses fonctions protectrices (Herrmann *et al.*, 1999). De façon plus précise, l'une des protéines digérées est MUC2, protéine majoritaire de la composition du mucus. Cette diminution de MUC2 entraîne une diminution de la couche de mucus protectrice de l'épithélium intestinal envers les bactéries commensales du côlon (Van der Sluis *et al.*, 2006). Ceci permet aux bactéries d'entrer en contact avec la surface des cellules épithéliales et entraîner une cascade de signalisation menant à une réponse inflammatoire soutenue. Ces événements peuvent mener à une réponse immunitaire non-appropriée chez un individu qui serait initialement prédisposé au point de vue génétique (Mashimo *et al.*, 1996). Cette mauvaise réponse immunitaire peut être traduite par l'augmentation des voies cellulaires associées à la réponse inflammatoire causée par un mauvais développement des cellules T effectrices et régulatrices (Bouma et Strober, 2003).

La diminution de mucus causée par la présence de protéases luminales permet ainsi aux bactéries d'atteindre la surface des cellules épithéliales, entraînant une réponse inappropriée du système immunitaire, ce qui cause une grande demande de production de MUC2 pour régénérer les couches de mucus après destruction (Wu *et al.*, 2018). Cette demande rapide de production protéique cause également un mauvais repliement de la protéine au sein des cellules caliciformes. Cette mauvaise conformation protéique ne permet donc pas une production appropriée de MUC2, ce qui cause la formation d'une barrière inefficace contre le contenu de la lumière intestinale (Van der Sluis *et al.*, 2006).

De façon parallèle à la diminution des propriétés protectrices de la couche de mucus, les patients atteints de MIIs montrent également une diminution de leur capacité réparatrice de l'épithélium intestinal. Il a été proposé que ce défaut pourrait être expliqué par la diminution de l'expression de TFF3. En effet, une expérience chez la souris a montré que la perte de TFF3 diminuait les capacités de régénération de l'épithélium intestinal face à des dommages causés chimiquement. En plus d'une perte de poids plus prononcée, de la diarrhée et du sang dans les selles, les souris invalidées pour le gène *Tff3* avaient un plus grand nombre

de zones enflammées (abcès de cryptes, ulcères dans la muqueuse et destruction de la structure épithéliale) que les contrôles lors d'une exposition au DSS à une concentration de 2,5% (Mashimo *et al.*, 1996). Avec le temps et le développement de la maladie, cette mauvaise capacité de régénération peut entraîner l'apparition de la fibrose. En effet, la présence constante de signaux de stress inflammatoires endommage l'épithélium, causant ainsi une demande constante de réparation de l'épithélium. Cette demande peut alors excéder les capacités de l'hôte à réparer les bris de l'épithélium. Pour compenser, l'organisme génère alors des fibres de tissu cicatriciel, majoritairement composé de collagène, engendrant alors la fibrose (Rieder et Fiocchi, 2009). Ce phénomène de fibrose entraîne également un durcissement des parois de l'intestin, ce qui réduit également le péristaltisme intestinal.

Différentes voies de signalisation cellulaire au niveau des CEIs peuvent également être modulées lors de maladies inflammatoires intestinales. Certaines d'entre elles affectent grandement la prolifération des CEIs. De façon plus précise, la réserve de cellules progénitrices destinées à se différencier en cellules sécrétrices est grandement diminuée. En effet, lors de colite, il est observé que le nombre de cellules exprimant ATOH1 est grandement diminué. ATOH1 étant important dans le processus de régénération de l'épithélium en cas de stress, lorsque l'expression de ce dernier est à la baisse, les cellules ont de la difficulté à régénérer l'épithélium lors d'une exposition constante aux stress inflammatoires (Castillo-Azofeifa *et al.*, 2019). La diminution des cellules progénitrices peut également être la source initiale des conséquences mentionnées dans les paragraphes précédents.

Enfin, lors d'une présence constante d'un stress inflammatoire, comme dans le cas de la colite ulcéreuse, il est possible de voir l'apparition d'un allongement des cryptes du côlon. Ce phénomène est attribué à une demande de régénération de l'épithélium plus élevée que dans un contexte normal. Lors de blessures de l'épithélium du côlon, il y a production de *R-spondin 2*, ce qui stimule la division des cellules souches, menant également à une plus grande production de cellules *TA* dans la crypte. Cette stimulation augmente grandement la quantité de cellules *TA* s'intercalant l'une avec l'autre, ce qui augmente l'espace qu'elles

occupent au sein de la crypte et provoquant ainsi l'hyperplasie des cryptes (Litvak *et al.*, 2018).

2.2 Modèle expérimental de colite aigüe et chronique

Afin de reproduire les conditions inflammatoires des MIIs, un modèle expérimental de colite aigüe ou chronique via l'introduction du dextran sulfate de sodium (DSS) à différentes concentrations est souvent utilisé. Ce dernier a été développé par une équipe de chercheurs au début des années 90 (Okayasu *et al.*, 1990). Le DSS est un polysaccharide toxique pour l'épithélium du côlon. Sa présence dans le tube digestif des souris entraîne la destruction de l'épithélium intestinal, ce qui cause également une réponse immunitaire importante altérant les fonctions de barrière de la couche de mucus (Kiesler *et al.*, 2015). Dans un profil d'exposition aigüe, le DSS est introduit dans l'eau de boisson à des concentrations allant de 3 à 10%. Dans ce modèle, le côlon distal est le plus affecté par la présence du DSS. Cependant, dans les cas où l'inflammation est plus sévère, les dommages à l'épithélium intestinal peuvent s'étendent jusqu'au caecum. Une perte de poids associée à des selles molles et sanglantes sont observées au cours du traitement. De plus, un rétrécissement du côlon est observée au terme de quelques jours de traitement au DSS (Okayasu *et al.*, 1990) (Wirtz *et al.*, 2017).

Contrairement à une exposition aigüe, la concentration du détergent en condition chronique est beaucoup moins élevée, variant entre 1 à 5% selon la source du DSS utilisée. Ainsi, le modèle expérimental de colite chronique est possible grâce à cette introduction de DSS à plus faible concentration pendant quelques jours suivi d'une période de récupération de quelques semaines où le DSS est retiré de l'eau de boisson. Ce cycle DSS-récupération peut être répété jusqu'à 5 fois, menant ainsi au phénotype de colite retrouvé chez les patients atteints de la maladie. En présence de DSS, les souris souffrent de diarrhée qui peut s'accompagner de sang dans les selles. En revanche, ces symptômes disparaissent normalement lors du retrait du DSS et reviennent lors de la réintroduction du polysaccharide. À la fin du traitement, plusieurs signes d'inflammation peuvent être observés. Ceux-ci peuvent prendre la forme d'infiltration de cellules immunitaires de la muqueuse à la sous-muqueuse, réduction de la longueur du côlon, abcès de cryptes et hyperplasie des cryptes. Il

peut également y avoir la formation de nouveaux follicules lymphatiques dans le côlon moyen et distal (Okayasu *et al.*, 1990) (Wirtz *et al.*, 2017).

3. La transcription, principe général

Au cours de son développement, un organisme complexe doit être capable de spécification cellulaire et tissulaire afin de remplir des fonctions précises assurées par un ensemble de gènes activés ou réprimés selon la demande et la situation physiologique. Ce contrôle passe également par un changement de structure de la chromatine, entraînant l'activation ou la répression de l'expression des gènes. La chromatine peut être sous une forme que l'on nomme hétérochromatine qui se caractérise par une structure condensée et inactive. La seconde forme est nommée euchromatine et correspond à une structure décondensée et active permettant ainsi l'expression des gènes. Les modifications épigénétiques dictent l'état de la chromatine. Ces modifications impliquent les queues N-terminales des histones ou encore leurs domaines interagissant directement avec l'ADN. Ces ajouts ou retraits de modifications épigénétiques, catalysés par des enzymes dites « *writers* » ou « *erasers* », permettent à la cellule de mieux répondre aux variations des besoins cellulaires et signaux environnementaux. Ces enzymes sont également capables d'interagir avec les nucléosomes et les enzymes de remodelage de la chromatine (Dai *et al.*, 2020).

De façon plus précise, les modifications épigénétiques permettant l'accès ou non aux séquences génomiques nécessaires à la transcription des gènes sont; 1) la méthylation de l'ADN et des histones, 2) l'acétylation des histones, 3) l'acylation des histones, 4) l'homocystéinylation des histones, 5) la monoaminylation des histones, 6) l'O-GlcNacylation des histones, 7) l'ADP-ribosylation des histones et 8) les modifications non-enzymatiques de la chromatine (Dai *et al.*, 2020). La méthylation de l'ADN ou des histones est un processus impliquant la dégradation de la méthionine en adénosylméthionine (SAM), donneur du groupement méthyle (Sanderson *et al.*, 2019). SAM, devenu substrat des histones et des ADN méthyltransférases, est ensuite converti en S-adénosylhomocystéine (SAH) : inhibiteur compétitif des méthyltransférases. Cela crée donc une boucle de rétro-inhibition. D'autres processus peuvent influencer la méthylation des histones et de l'ADN comme les réactions enzymatiques ou la régulation des réactions d'oxydo-réduction (Dai *et al.*, 2020).

L'acétylation des histones est un processus dans lequel un groupement acétyl, dérivé de l'acétyl-CoA, est transféré au groupement amino-ε des lysines des histones. Cette action est catalysée par des acétyltransférases (Bannister et Kouzarides, 2011), communément appelées histone acétyltransférases (HATs). De son côté, l'acylation des histones est un processus semblable à l'acétylation des histones mais moins bien connu. Il s'agit plutôt d'un processus dans lequel un groupement acyl, dérivé des molécules ayant des groupements acyl à courte chaîne comme les SCFAs, est transféré. Plus précisément, les acyl-CoA synthétases produisent de l'acyl-CoA à partir des molécules SCFAs. Le métabolite est ensuite transféré aux queues des histones de façon non-enzymatique (Dutta *et al.*, 2016). L'ADP-ribosylation des histones, ou PARylation, est un processus de retrait d'une mono ou d'une poly-ADP-ribosylation sur les lysines des histones via une action enzymatique. Ce phénomène influence grandement l'attachement de cofacteurs permettant l'expression des gènes, la réplication et la réparation de l'ADN (Ciccarone *et al.*, 2017).

L'une des familles de cofacteurs importants dans la régulation de l'expression des gènes sont les corégulateurs transcriptionnels. Ils agissent comme intermédiaires directs entre les facteurs environnementaux et les produits de transcription via leur capacité de senseurs métaboliques et de protéines effectrices. De plus, étant dépourvu de domaine de liaison à l'ADN, les corégulateurs nécessitent un attachement avec les facteurs de transcription afin d'être recrutés aux promoteurs et « *enhancer* ». Cette famille protéique peut être divisée en deux grandes catégories soient; les coactivateurs (CoA) et les corépresseurs (CoR). Ils sont également capables d'induire et de réprimer respectivement la transcription (Figure 2). La présence de ces derniers est également influencée par la structure locale de la chromatine ou par l'activation ou la conformation des facteurs de transcription (Schnyder *et al.*, 2017).

Il fut un temps où la littérature rapportait qu'un corégulateur ne possédait qu'une seule fonction activatrice ou inhibitrice. Ainsi, le recrutement d'un CoA par le facteur de transcription permettait l'expression de gènes cibles. S'il y avait plutôt recrutement d'un CoR au même facteur de transcription, la répression de la transcription était de mise (Glass et Rosenfeld, 2000). Cependant, il existe des corégulateurs, comme le « *Nuclear receptor*-

interacting protein 1 (NRIP1) », qui ont une double capacité en fonction des besoins cellulaires et du facteur de transcription auquel il est recruté. Dans une situation d'activation de la transcription dans un contexte d'inflammation, d'ovulation ou de développement des glandes mammaires, NRIP1 agit comme coactivateur. Cela est possible grâce à l'interaction entre le domaine LXXLL de NRIP1 et le « *LBD-domain* » des récepteurs nucléaires. Cette interaction permet de garder le complexe dans sa conformation active. Dans le cas contraire, NRIP1 agit comme « co-corégulateur » (Nautiyal *et al.*, 2013). Ses rôles de corégulateur répressif ont été montrés via son interaction avec les récepteurs nucléaires comme les PPAR- α et δ , les LXRs, le NRF-1 et autres (Rosell *et al.*, 2011). En effet, NRIP1 possède quatre domaines d'auto-répression. Ces derniers lui permettent donc de recruter d'autres enzymes ayant des capacités inhibitrices ou de modification des histones. En d'autres mots, en situation nécessitant la répression de la transcription, NRIP1 agit d'intermédiaire entre les facteurs de transcription et les autres enzymes permettant la condensation de la chromatine (Nautiyal *et al.*, 2013). Il s'agit donc d'un corégulateur contexte dépendant.

Dans un contexte de répression, les corépresseurs font partie d'un grand complexe généralement composé d'une dizaine de protéines. Ces dernières peuvent être des histones déacétylases (HDACs), des « *DNA-binding proteins* », des histones méthyltransférases et des composantes structurales de la chromatine. Les capacités inhibitrices du complexe provient majoritairement de l'activité enzymatique de HDAC3 soutenue par son interaction avec les domaines DAD des corépresseurs (You *et al.*, 2013), (Emmett et Lazar, 2019). Cette enzyme a la capacité de déacétyler les queues des histones à proximité, causant ainsi un changement de conformation du nucléosome, ce qui a également un impact sur la disponibilité des sites d'initiation de la transcription. En effet, ce changement épigénétique cause entre autres une condensation de la chromatine limitant l'accès ainsi à la machinerie nécessaire à l'initiation de la transcription. De façon plus précise, lorsqu'un CoR est recruté par un facteur de transcription, il y a également recrutement de ses partenaires d'interactions qui aident à maintenir la répression de la transcription. Cela résulte en la modification des protéines qui résident sur la queue des histones.

D'un autre côté, lorsque les besoins cellulaires nécessitent l'activation spécifique d'un ensemble de gènes à la suite d'une situation physiologique précise, plusieurs cascades de signalisation induisent un changement de conformation du complexe facteur de transcription/corépresseur, ce qui permet le remodelage de ce complexe en libérant le CoR pour le remplacer par un coactivateur. Ce dernier interagit à son tour avec des enzymes permettant une décondensation de la chromatine entraînant ainsi l'expression de gènes nécessaires pour subvenir aux besoins cellulaires précis. De façon générale, ces enzymes sont des histones acétyl transférases. Comme son nom l'indique, elles ont la capacité d'ajouter des groupements acétyl sur les queues des histones en proximité, rendant les sites d'initiation de la transcription plus accessibles (Krasnov *et al.*, 2016).

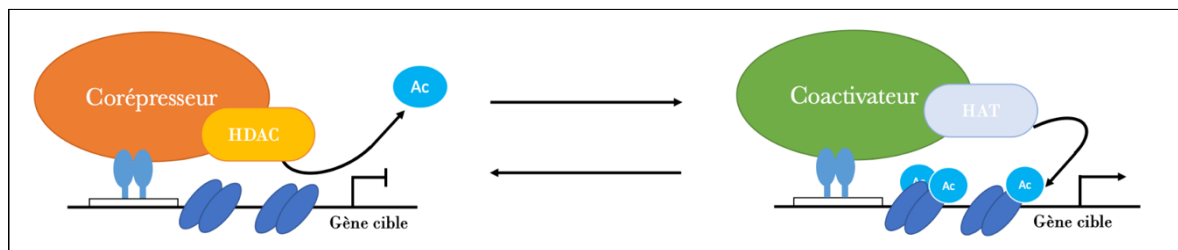


Figure 2 : Les corégulateurs transcriptionnels ont un impact sur l'activation de la transcription de gènes cibles en fonction des signaux environnementaux et des besoins cellulaires. Lorsque la cellule a besoin d'activer l'expression de gènes cibles, il y a recrutement d'un coactivateur (CoA) transcriptionnel qui s'attache aux facteurs de transcription. Via son interaction avec des molécules activatrices comme des histones acétylases (HAT), le coactivateur favorise la transcription des gènes. De façon opposée, lorsque les signaux environnementaux indiquent à la cellule que celle-ci doit réprimer l'expression de gènes spécifiques, il y a plutôt recrutement d'un corépresseur (CoR). Les CoR interagissent plutôt avec des molécules inhibitrices, comme des histone acétyltransférases (HDAC). En fonction de l'activité enzymatique des HDACs, il y a alors déacétylation de la queue des histones à proximité. Ce processus, combiné avec d'autres facteurs favorisant la répression de la transcription, inhibe l'expression de gènes cibles (Figure inspirée de Müller *et al.*, 2018).

4. La découverte du « Nuclear Receptor Corepressor (NCOR) »

Le « *Nuclear Receptor Corepressor 1* (NCOR1) » a été découvert en 1995 suite à des recherches visant la compréhension des mécanismes impliqués dans la répression transcriptionnelle des récepteurs à l'hormone thyroïdienne (RHT) et à l'acide rétinoïque (RAR- α). Lors d'expériences interactionnelles impliquant le système double hybride chez la levure, une molécule de 270 kDa a été découverte comme interagissant aux extrémités C-terminales du récepteur de l'hormone thyroïdienne stable (RHT) lié au « *retinoid-X receptor* » (RHT/RXR) et ce, en absence de ligand. À la suite de l'ajout d'un ligand, il a été observé que cette interaction était déplacée et remplacée par d'autres petites protéines. Un phénomène similaire a été observé dans le contexte du duo récepteur à l'hormone thyroïdienne et récepteur à l'acide rétinoïque- α (RAR- α) (Hörlein *et al.*, 1995). En parallèle, des expériences de « *GST pull-down* » ont montré qu'une partie isolée correspondant à la région C-terminale de NCOR1 interagissait de la même façon que cette nouvelle molécule identifiée de 270 kDa. De façon intrigante, les auteurs ont remarqué que lorsque la protéine entière de NCOR1 était utilisée dans ces essais, l'ajout d'un ligand n'arrivait pas à déplacer son interaction avec les récepteurs nucléaires. Ceci impliquait donc que la structure allostérique soit importante dans l'interaction entre ladite protéine (NCOR1 ou 270 kDa) et les récepteurs nucléaires. Des expériences de transfection, de co-immunoprécipitation et d'immunobuvardage ont confirmé que la nouvelle protéine de 270 kDa correspondait à NCOR1. Ces expériences, combinées avec l'expression de protéines tronquées, ont également permis de déterminer la nature des domaines précis requis pour l'interaction physique entre les protéines et facteurs de transcription (Hörlein *et al.*, 1995). Ce sont donc toutes ces expériences qui ont permis d'identifier la protéine NCOR1 comme un corépresseur des récepteurs de l'hormone thyroïdienne et de l'acide rétinoïque (Hörlein *et al.*, 1995).

4.1 La structure de NCOR1

NCOR1 est situé sur le chromosome 17 chez l'humain et 11 chez la souris et fait partie d'un grand complexe de protéines dédié à la répression de gènes cibles dans plusieurs processus biologiques. Le corépresseur possède également un homologue d'une même taille moléculaire, appelé le « *Silencing Mediator Receptor Corepressor* (SMRT) », ou encore NCOR2. Ces deux corépresseurs homologues montrent une forte homologie en terme de

séquence protéique (Perissi *et al.*, 2010). Ils sont donc capables d'interagir avec les mêmes récepteurs nucléaires. Cependant, cela ne signifie pas qu'ils ont les mêmes fonctions cellulaires. En effet, de façon générale, NCOR1 interagit plus fortement avec le récepteur de l'hormone thyroïdienne, tandis que SMRT interagit davantage avec le récepteur de l'acide rétinoïque (Cohen *et al.*, 2001). NCOR1 ne possède pas vraiment de structure 3D définie étant donné son rôle de protéine « plateforme » servant d'ancrage pour plusieurs partenaires d'interaction. D'un autre côté, trois catégories de domaines fonctionnels présents chez NCOR1 ont été bien caractérisés : 1) les « *repression domains* (RDs) », 2) les « *SANT-like domains* » et 3) les domaines RIDs (Figure 3).

La première catégorie de domaines, les RDs, sont ceux permettant aux corépresseurs d'exercer leur activité de répression de la transcription lorsque liés aux récepteurs nucléaires. Ils permettent également à NCOR1 d'interagir avec ses partenaires d'interaction présents dans le complexe de répression (Li *et al.*, 1997). Les « *SANT-like domains* » se retrouvent à l'extrémité N-terminale de NCOR1 et via l'action synergique de Swi3, Ada2, NCOR1 et TFIIB, induisent la déacétylation des histones. Cette deuxième catégorie de domaines peut être séparée en deux sous-groupes; 1) le « *deacetylase activation domain* (DAD) » et, 2) le « *histone interaction domain* (HID) ». Comme son nom le dit, le DAD est responsable du recrutement et de l'activation préférentielle de HDAC3 (Guenther *et al.*, 2001). De façon plus importante, le DAD est nécessaire pour permettre à HDAC3 de maintenir son activité enzymatique *in vivo* (You *et al.*, 2013). En ce qui concerne le domaine HID, il permet au corépresseur de lier directement les queues des histones préférentiellement lorsqu'elles sont déacétylées. Cela supporte également le rôle de l'interaction NCOR1-HDAC3 dans l'établissement du code des histones lors de la répression de l'expression génique (Yu *et al.*, 2003). Les derniers domaines fonctionnels de NCOR1, les RIDs, sont responsables de l'interaction du corépresseur avec les récepteurs nucléaires et se trouvent à la partie C-terminale du corépresseur. Ces domaines sont composés de motifs spécifiques contenus dans un sous domaine : le « *co-repressor nuclear receptor* (CoRNR) ». Ces motifs permettent au corépresseur d'interagir avec la partie hydrophobique du récepteur nucléaire lorsqu'il est dans sa conformation répressive (Hu et Lazar, 1999). Il existe trois RIDs (N1, N2 et N3) sur NCOR1 qui permettent une interaction plus stable avec les récepteurs. De façon plus précise,

N3 détermine avec lequel des récepteurs nucléaires NCOR1 interagit de façon spécifique (Cohen *et al.*, 2001).

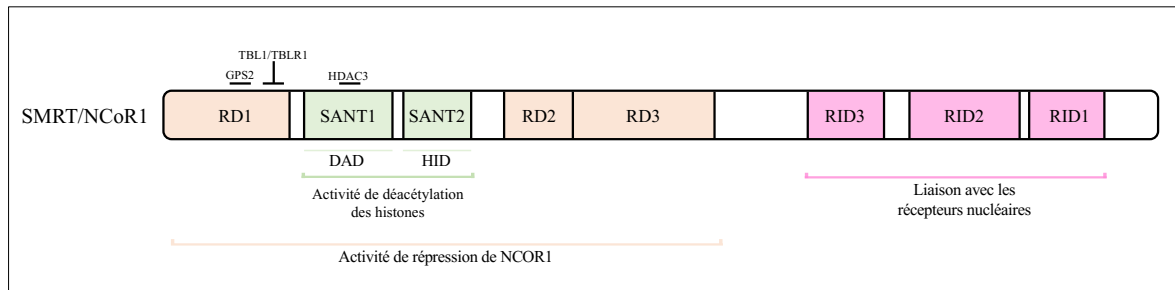


Figure 3 : Schéma illustrant les domaines fonctionnels de NCOR1. Les domaines RDs sont nécessaires à la fonction principale de répression de la transcription de NCOR1. De leur côté, les domaines « *SANT-like* » sont importants pour le recrutement et l'activation de HDAC3. Les derniers domaines fonctionnels, les RIDs, permettent à NCOR1 d'interagir avec les récepteurs nucléaires afin de réprimer l'expression de leurs gènes cibles en absence de ligand (Figure inspirée de Mottis *et al.*, 2013).

4.2 Les partenaires d'interaction de NCOR1

Comme mentionnée plus haut, les RDs permettent à plusieurs protéines d'interagir avec NCOR1 en fonction du contexte ou seulement pour une interaction momentanée. En effet, le complexe dans lequel se trouve NCOR1 combine plusieurs fonctions enzymatiques dans le but de réprimer l'expression de gènes cibles. Ces fonctions enzymatiques différentes proviennent de plusieurs partenaires d'interaction dont les principaux sont le « *transducing β -like 1* (TBL1) » et son homologue le « *TBL-related 1* (TBLR1) », le « *G protein pathway suppressor* (GPS2) » et HDAC3 (Figure 4) (Oberoi *et al.*, 2011). TBL1 et TBLR1 possèdent un double rôle au sein du complexe de répression. En plus de leur rôle dans la répression de la transcription, ces deux protéines sont importantes dans l'exportation du complexe de répression hors du noyau. De façon plus précise, TBLR1 serait important dans le processus impliquant l'échange du corépresseur pour un coactivateur (Perissi *et al.*, 2004). GPS2 est également un partenaire d'interaction de NCOR1 aidant au processus de répression de la transcription. C'est également via son interaction avec TBL1 que GPS2 augmente la force de son interaction avec le corépresseur sur son domaine RD1. En effet, TBL1 agit comme

stabilisateur de l'interaction lorsqu'il forme un hétérotrimère avec GPS2 et NCOR1. La proximité de GPS2 avec le « *SANT-like* » domaine de NCOR1 lui permet également d'exercer une action sur HDAC3. Il a effectivement la capacité d'une activité latente de ce partenaire permettant ainsi une suppression plus soutenue de la transcription. GPS2 permet également l'inhibition des voies de signalisation intracellulaire impliquant JNK1, ce qui suggère que ce complexe de répression serait impliqué dans un processus de « *cross-talk* » de la signalisation entre les récepteurs membranaires et nucléaires (Zhang *et al.*, 2002). Le dernier partenaire principal de NCOR1 est HDAC3. L'interaction entre ces deux protéines donne au complexe ses capacités de répression de la transcription en absence de ligand. En effet, cette enzyme déacétyle les lysines de la queue des histones en périphérie du complexe, induisant ainsi un repliement de la chromatine. Cependant, d'autres histones déacétylases peuvent être recrutées par NCOR1, mais via une interaction beaucoup moins forte et selon une transcription dépendante de facteurs et de contextes spécifiques (Perissi *et al.*, 2010).

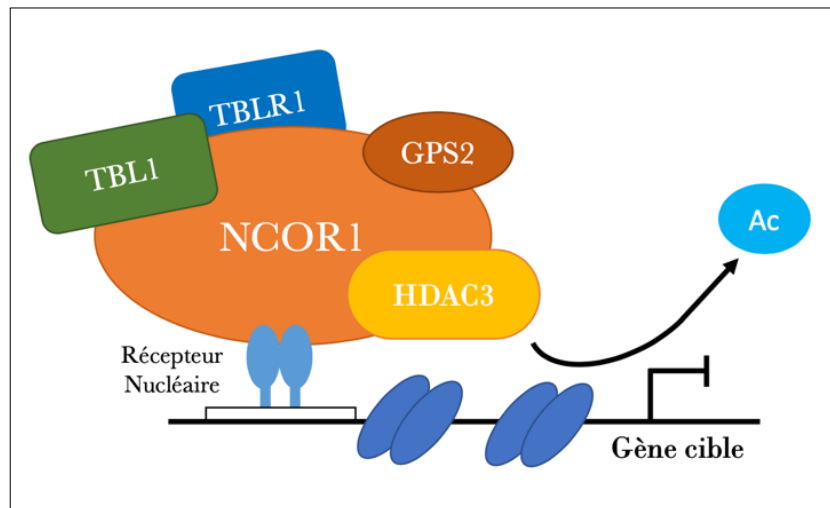


Figure 4 : Le « Nuclear Receptor Corepressor 1 (NCOR1) » fait partie d'un grand complexe de répression. En plus de son interaction avec plusieurs récepteurs nucléaires et facteurs de transcription, NCOR1 interagit avec une dizaine de protéines (Yoon *et al.*, 2003) incluant quatre principaux partenaires d'interaction qui supportent son action sur la répression génique. Ces principaux partenaires sont TBL1, TBLR1, GPS2 ainsi que HDAC3. C'est également par l'interaction avec ce dernier partenaire que le complexe acquiert son activité inhibitrice. En effet, l'activité enzymatique de HDAC3 déacétyle les lysines de la queue des histones avoisinantes du complexe, condensant ainsi la chromatine.

4.3 NCOR1 et la signalisation cellulaire

NCOR1 est un corépresseur important dans le contrôle de l'expression des gènes impliqués dans la réponse inflammatoire. En condition non-stimulée, l'expression de certains gènes de la réponse inflammatoire et associés aux facteurs de transcription NF- κ B ou à « l'activator protein 1 (AP1) » est réprimée dans les macrophages. Cette inhibition est principalement due à l'action du complexe de répression contenant NCOR1 et recruté directement par les facteurs de transcription (Ghisletti *et al.*, 2009). Lors de la présence de stimuli inflammatoires, il y a alors une cascade de signalisation menant à la modification post-traductionnelle des protéines du complexe et délocalisation de ces protéines hors du noyau, ce qui permet l'activation de la transcription de ces gènes pro-inflammatoires. Ce processus est également appelé « dé-répression » (Perissi *et al.*, 2010). Il existe plusieurs façons d'induire la dé-répression (Figure 5). L'une d'entre elles est la phosphorylation d'éléments composant le complexe de répression formé par NCOR1.

Lors de l'activation de voies de signalisation impliquant les récepteurs membranaires de type « *Toll-like* (TLR) » il y a activation de plusieurs cascades de kinases menant à l'activation de l'expression de certains gènes pro-inflammatoires. C'est d'ailleurs le cas pour l'activation de la signalisation impliquant le récepteur TLR4 et le facteur de transcription NF- κ B. L'activation de cette voie, débutant par la stimulation du récepteur via la présence de lipopolysaccharides (LPS), cause la phosphorylation et l'activation de IKK ϵ . Cette dernière a alors la capacité de phosphoryler la sous-unité p65 du complexe NF- κ B, situé au cytoplasme lorsqu'elle est inactive. Cette phosphorylation entraîne la dégradation de la sous-unité I κ B- α au protéasome, ce qui permet également la translocation au noyau du dimère formé des sous-unité p50 et p65 (aussi connu sous le nom de κ B) (Shin et Choi, 2019). À noter que, dans le processus de dé-répression, IKK ϵ reste associée à p65 lors de la translocation au noyau. Cette association entre p65 et IKK ϵ permet à κ B, normalement dépourvu d'activité enzymatique, d'acquérir une activité kinase (Huang *et al.*, 2009). Cela cause la phosphorylation de certaines sous-unités des facteurs de transcription avec lequel NCOR1 interagit, ce qui entraîne également la délocalisation du complexe de répression composé de NCOR1 (Huang *et al.*, 2009). Ce processus est spécifique aux gènes dont les promoteurs possèdent des séquences spécifiques pour κ B (Huang *et al.*, 2009) ou encore

dépendants du complexe transcriptionnel AP1. Ce dernier est généralement impliqué dans l'expression des gènes cibles lors de stimulations aux cytokines pro-inflammatoires, aux neurotransmetteurs, aux hormones, aux interactions cellule-cellule, aux infections virales ou bactériennes et finalement lors de la présence de plusieurs stress chimiques (Shaulian et Karin, 2002).

Une seconde manière de lever l'inhibition de la transcription des gènes pro-inflammatoires est via l'activation des récepteurs de type TLR2. Cette activation mène ultimement à l'ubiquitination de NCOR1. De façon plus précise, l'activation du récepteur TLR2 induit une cascade de protéines, impliquant la PI3K et la PLC (Chun et Prince, 2006), permettant l'activation de la protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante (CaMKII). Cette dernière a alors la capacité de phosphoryler TBLR1. Cela entraîne le recrutement de « l'ubiquitin-conjugating enzyme H5 (UBCH5) » et de la sous-unité 19S du protéasome. Il y a alors ubiquitination de NCOR1, ce qui provoque le détachement du complexe de répression du facteur de transcription et la dégradation du complexe de répression par la sous-unité 19S du protéasome. Ces processus s'agencent également à l'initiation de la transcription de ces gènes cibles (Huang *et al.*, 2009) (Perissi *et al.*, 2004) (Perissi *et al.*, 2010).

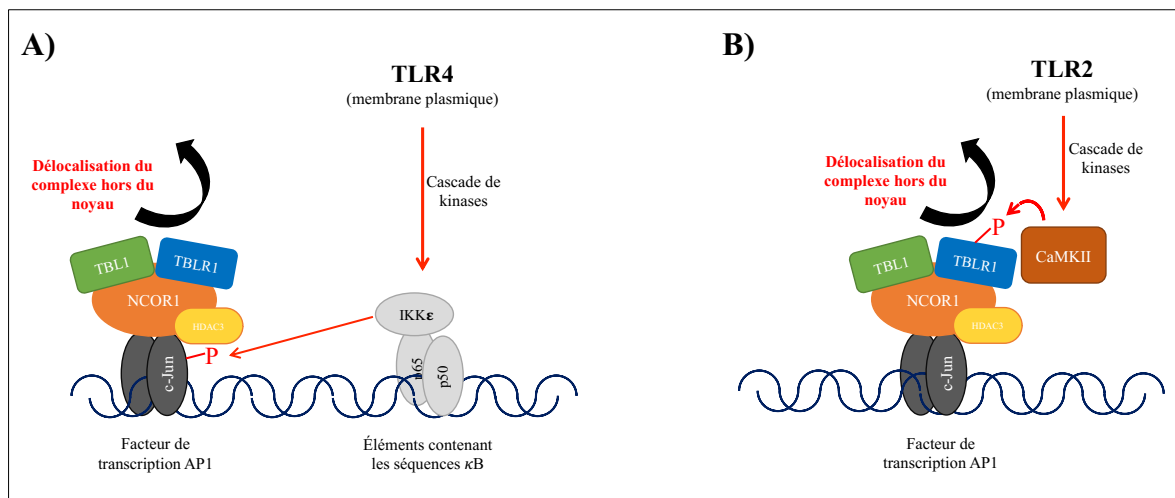


FIGURE 5 : Mécanisme de dé-répression. Les stimuli environnementaux induisent la délocalisation du complexe de répression composé de NCOR1 hors du noyau permettant ainsi l'activation de la transcription. Ce processus passe également par l'activation de plusieurs kinases menant à la phosphorylation des facteurs de transcription ou de partenaires

d'interaction de NCOR1 présents au sein du complexe transcriptionnel. **A)** Dé-répression impliquant l'activation du récepteur TLR4. **B)** Dé-répression via l'activation du récepteur TLR2 (Figure inspirée de Huang *et al.*, 2009).

Des modifications post-traductionnelles permettent également de maintenir la répression de l'expression des gènes en fonction de signaux cellulaires spécifiques. L'une de ces modifications est la transrépression ligand-dépendante. Ce processus passe également par la sumoylation du « *Peroxisome proliferator-activated receptor- γ* (PPAR- γ) ». Ce récepteur nucléaire est connu pour être nécessaire dans le métabolisme des lipides (Spiegelman, 1998) et l'homéostasie du glucose (Willson *et al.*, 2001). Il promeut également des actions anti-inflammatoires dans les macrophages et autres types cellulaires (Glass et Ogawa, 2006). Lors d'une stimulation inflammatoire impliquant le facteur de transcription NF- κ B, via l'action des LPS par exemple, il y a liaison de PPAR- γ et de son ligand, ce qui entraîne également la sumoylation du récepteur nucléaire. PPAR- γ sous forme sumoylée cible le complexe de répression NCOR1-HDAC3. Cela empêche donc l'action ubiquitinyase de TBLR1 sur NCOR1 ainsi que le recrutement de la sous-unité 19S du protéasome. Le complexe de répression se retrouve ainsi stablement fixé au facteur de transcription ce qui maintient la répression transcriptionnelle des gènes pro-inflammatoires (Pascual *et al.*, 2005).

4.4 NCOR1 et son rôle dans la prolifération et la différenciation cellulaire

Il a été rapporté que NCOR1 est différentiellement exprimé le long de l'axe crypte-villosité de l'épithélium intestinal (Doyon *et al.*, 2009). En effet, l'expression protéique de NCOR1 est enrichie à la base de la crypte et cette expression diminue de façon progressive le long de l'axe vertical de l'intestin grêle. Cela suggère que NCOR1 serait impliqué dans le maintien de l'état prolifératif des CEIs. En appui de ceci, une réduction de la prolifération des cellules épithéliales intestinales normales IEC-6 fut observée lorsque l'expression de NCOR1 fut réduite par un ciblage via des ARN interférents (Doyon *et al.*, 2009).

In vivo, NCOR1 joue également un rôle dans les cellules sanguines. En effet, NCOR1 est différemment exprimé selon l'étape du cycle cellulaire dans le processus d'érythropoïèse

(Wan *et al.*, 2019). Tout comme au sein de l'axe crypte-villosité, l'expression de l'ARNm du corépresseur est plus élevée dans les cellules progénitrices immatures de la moelle osseuse et diminuée dans les fractions différenciées. De plus, la perte de *Ncor1* a des impacts plus importants au niveau des lymphocytes. En effet, les souris invalidées pour *Ncor1* au niveau des cellules hématopoïétiques ont une diminution des cellules progénitrices des lymphoïdes dans la moelle osseuse. De façon complémentaire, une analyse du transcriptome complet des souris invalidées pour *Ncor1* dans les cellules hématopoïétiques a révélé une diminution de l'expression des gènes associés à la différenciation tels que *Rag1*, *Rag2*, *Flk2*, *Meg3* et *Zap70*. Cela suggère que la perte de *Ncor1* entraîne des changements dans l'expression des gènes dans le compartiment lymphocytaire de la moelle osseuse, ce qui entraîne également des défauts dans la différenciation des lymphocytes (Wan *et al.*, 2019).

5. Le rôle de NCOR1 dans le développement murin

5.1 Délétion constitutive de *Ncor1*

NCOR1 joue un rôle très important au cours du développement chez la souris. La délétion constitutive de *Ncor1* (*Ncor1*^{-/-}) chez cette espèce entraîne une mort causée par une mauvaise érythropoïèse au jour embryonnaire 15,5 (E15,5) (Jepsen *et al.*, 2000). De plus, les animaux mutants montrent une réduction de la taille du thymus causée par une mauvaise différenciation des thymocytes après le stade de double négatif (CD4⁻/CD8⁻) (Jepsen *et al.*, 2000). Enfin, NCOR1 influence également le développement du système nerveux central puisque les souris *Ncor1*^{-/-} montrent une diminution de taille de leur thalamus ainsi qu'un troisième ventricule cervical plus gros.

5.2 Génération du modèle *Ncor1*ΔExon11 par délétion conditionnelle

Le modèle de souris *Ncor1*^{-/-} étant létal, il était donc plus difficile de comprendre le rôle du corépresseur au sein d'un organe spécifique. Pour remédier à ce problème, plusieurs équipes de recherche ont généré différents modèles de souris visant la modification de la protéine NCOR1 au niveau de domaines particuliers (NCORi (Feng *et al.*, 2001), NCOR1ΔID (Astapova *et al.*, 2011) et (Fozzatti *et al.*, 2011), L-NCOR1ΔID (Astapova *et al.*, 2008) et DADm (Alenghat *et al.*, 2008)). Ces approches ont permis de mieux comprendre

le rôle fonctionnel des interactions entre NCOR1 et ses partenaires précis en fonction des tissus spécifiques où les modifications ont été induites. Un autre modèle plus récent fut généré afin d'éliminer la production entière de la protéine et ce, de façon conditionnelle en fonction de tissus et organes précis (Yamamoto *et al.*, 2011).

5.2.1 *NCOR1 et son rôle dans les muscles*

En plus de son rôle important dans le développement du SNC, des érythrocytes et des thymocytes au cours du développement, NCOR1 influence la masse et les fonctions musculaires. En effet, NCOR1 réprime la transcription de gènes régulateurs de l'oxydation des acides gras et sa perte entraîne une augmentation de l'efficacité des muscles à utiliser les substrats lipidiques (Yamamoto *et al.*, 2011). De façon plus précise, les souris invalidées pour NCOR1 dans le tissu musculaire (*NCoR1*^{skm^{-/-}}) montrent une masse musculaire des soléaires et des gastrocnémiens relativement plus élevée. De plus, lors d'expériences en calorimétrie indirecte, les souris *NCoR1*^{skm^{-/-}} montrent une performance locomotrice et une consommation d'oxygène plus élevée. Les souris *NCoR1*^{skm^{-/-}} affichent un ratio d'échange respiratoire diminué, synonyme d'une plus grande utilisation de gras comme source d'énergie. En plus de tous ces marqueurs, les souris invalidées pour *Ncor1* montrent une plus grande endurance musculaire, ce qui est également causée par une plus grande myogenèse. Les souris invalidées pour le corépresseur montrent aussi des signes d'une plus grande sensibilité à l'insuline lors d'injections intrapéritonéales (Yamamoto *et al.*, 2011).

5.2.2 *NCOR1 et son rôle dans le tissu adipeux*

Un second rôle important de NCOR1 est au niveau du tissu adipeux. En effet, dans ce type tissulaire, NCOR1 intervient dans le métabolisme de sensibilité au glucose et à l'insuline ainsi que dans l'inflammation du tissu adipeux (Li *et al.*, 2011). Les souris invalidées pour NCOR1 dans les tissus adipeux (AKO) montrent un poids élevé accompagné d'une plus grande consommation de nourriture lorsque les souris sont soumises à une diète riche en gras. Cette augmentation du poids est due à une plus grande masse grasse sous-cutanée et viscérale. Au niveau moléculaire, une augmentation de l'expression de PPAR- γ est également observée dans le tissu adipeux, ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la masse grasse considérant que ce récepteur nucléaire est impliqué dans l'adipogenèse.

Cependant, le nombre et non la grosseur des cellules des tissus adipeux est augmenté chez les souris AKO. De plus, contrairement au phénotype normalement observé chez les souris soumises à une diète grasse, les animaux AKO montrent globalement une meilleure tolérance au glucose combinée à une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Les souris AKO montrent également une infiltration des macrophages moins élevée après plusieurs semaines de diète grasse. En parallèle, l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'INF γ et l'IL-1 β est réduite chez les souris invalidées pour *Ncor1* (Li *et al.*, 2011).

5.3 NCOR1 et son rôle connu dans l'épithélium intestinal

5.3.1 L'UDP-glucuronosyltransférase

L'UDP-glucuronosyltransférase 1A1 (UGT1A1), située au niveau du réticulum endoplasmique, joue un rôle important dans le mécanisme de détoxification des stéroïdes, des acides biliaires, des hormones, des éléments environnementaux toxiques, des carcinogènes et de plusieurs autres drogues (Tukey et Strassburg, 2000). De plus, l'expression de l'UGT1A1 est sous le contrôle synergique des glucocorticoïdes et des récepteurs nucléaire de type PXR (Xie *et al.*, 2003). En effet, les niveaux de transcrits du gène *UGT1A1* sont augmentés dans un modèle de souris transgénique humanisée où les récepteurs PXR sont constitutivement actifs via l'introduction de mutations (Xie *et al.*, 2000). Cette augmentation est due à la séquence xénobiotique dans le promoteur du gène *UGT1A1*, permettant ainsi aux récepteurs PXR actifs d'induire sa transcription (Yueh *et al.*, 2003). Cela implique également que l'expression de l'enzyme est grandement influencée par la présence d'hormones dans le tissu dans lequel l'enzyme est exprimée (Chen *et al.*, 2005).

5.3.2 L'hyperbilirubinémie néonatale sévère

Une des pathologies associées à une expression atténuée de UGT1A1 est l'hyperbilirubinémie néonatale sévère (HNS). Cette dérégulation est associée à un polymorphisme au niveau du promoteur du gène *UGT1A1* (*UGT1A1**28) chez l'humain. De façon plus précise, ce polymorphisme implique une insertion de deux bases (T et A) supplémentaires dans la région de la boîte TATA du promoteur du gène (Bosma *et al.*, 1995). Chez une personne saine, l'enzyme permet d'effectuer la première étape limitante de la voie de dégradation de la bilirubine. L'HNS est une pathologie courante chez les nouveaux nés.

L'expression de l'UGT1A1 se normalise avec la croissance de l'individu, ce qui diminue également le taux de bilirubine dans le sang. Dans les cas plus graves, la persistance du défaut d'expression de la protéine peut causer des problèmes neurologiques allant de la léthargie aux spasmes musculaires, crises d'épilepsie et dans certains cas, la mort (Bhutani et Johnson-Hamerman, 2015).

5.3.3 Délétion constitutive de l'*UGT1A1*

Afin de mieux comprendre les mécanismes liés au développement de la maladie liée à la perte de fonction de l'enzyme, une équipe de recherche a généré un modèle de souris invalidée pour le gène *Ugt1* via l'introduction d'une mutation dans le gène menant ainsi à l'incapacité de produire l'UGT1A1 (*Ugt1*^{-/-}). Après analyses, ils ont observé que les souriceaux mouraient après quelques jours suivant la naissance dû à un très haut taux de bilirubine circulante. De plus, ils ont observé un défaut dans le métabolisme des drogues provoqué par une déficience dans la croissance des hépatocytes ainsi que des problèmes neurologiques causés par des dépôts de bilirubine au niveau du cerveau chez les souriceaux mutants. Ces observations informaient l'équipe de l'importance de l'UGT1A1 dans le développement hépatique normal chez la souris (Nguyen *et al.*, 2008).

5.3.4 Le rôle de *NCOR1* dans l'HNS

Sachant que l'UGT1A1 est régulée par les récepteurs nucléaires de types PXR et que NCOR1 est un corépresseur qui interagit avec ces derniers, une équipe de recherche s'est penché sur le rôle possible de NCOR1 dans l'expression de l'UGT1A1 et son impact dans le développement de l'hyperbilirubinémie néonatale sévère. Puisque l'UGT1A1 est majoritairement exprimé au niveau du tube digestif (Chen *et al.*, 2005) et qu'elle est impliquée dans le métabolisme de la bilirubine, ils ont invalidé *Ncor1* dans les cellules épithéliales intestinales chez les souris transgéniques humanisées possédant le polymorphisme de la maladie (Δ IEC^{UN}). Ils ont observé que les souris Δ IEC^{UN} montrent une diminution du taux de bilirubine circulant au cours de leur développement. De plus, la différence d'expression de l'UGT1A1 était beaucoup plus importante dans les premiers jours de croissance des souris Δ IEC^{UN}. Cela indiquait donc que le rôle de NCOR1 était plus important au cours du développement post-natal qu'à l'âge adulte. La délétion de *Ncor1*

permet donc d'induire l'expression de l'UGT1A1 réduisant ainsi le taux de bilirubine circulant au cours des premiers jours de développement néonataux (Chen *et al.*, 2017).

5.4 NCOR1 et son rôle protecteur de l'épithélium intestinal

NCOR1 montre également un rôle protecteur de l'épithélium intestinal face à un stress inflammatoire. En effet, une étude très récente a montré que la perte de *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinal rendait les souris plus susceptibles à développer la colite induite par le DSS (Mennillo *et al.*, 2020). Plus précisément, la perte de *Ncor1* a mené à une perte de poids plus importante et persistante lors de la colite expérimentale ainsi qu'une aggravation de l'inflammation intestinale (Mennillo *et al.*, 2020). NCOR1 favorise donc un maintien de l'épithélium intestinal en conditions de stress inflammatoire aiguë. Des résultats non-publiés de notre laboratoire ont aussi démontré une susceptibilité accrue des souris déficientes pour *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinale suite à la colite expérimentale aiguë (Loiselle, A., Mémoire, <http://hdl.handle.net/11143/11521>). En plus de son rôle protecteur en condition inflammatoire, des résultats de micro-puces réalisées dans le laboratoire ont permis de prédire la variation de certains gènes chez des animaux ayant été invalidés pour *Ncor1* dans les CEIs (St-Jean S., <http://hdl.handle.net/11143/10620>). De tous les transcrits étant prédits pour être augmentés, ceux associés au gène *Ido1* suggèrent que ce dernier pourrait être une cible de NCOR1 dans les CEIs.

6. Le métabolisme du tryptophane

Le tryptophane (Trp) fait partie des acides aminés essentiels pour l'organisme, notamment pour la synthèse protéique, mais également pour la biosynthèse de substrats bioactifs nécessaires aux processus enzymatiques du corps (Cervenka *et al.*, 2017). Ne pouvant pas être synthétisé dans le corps, son apport ne vient que de la diète. Une des synthèses résultante de la dégradation du Trp est celle de la sérotonine, un important neurotransmetteur impliqué dans la réponse adaptative du système nerveux central lors de la variation de l'humeur, de l'anxiété ainsi que dans les fonctions cognitives (Canli et Lesch, 2007). Malgré le fait que cette voie de dégradation du Trp soit la plus connue, la majorité de cet acide aminé est plutôt convertie par la voie de la kynurénine (Kyn), soit 95% de la totalité du Trp circulant (Yeung *et al.*, 2015). La Kyn est générée dans les tissus périphériques, via

l'action de l'indoléamine-2,3-dioxygénase (IDO1), et dans la voie hépatique, par la dégradation du Trp via l'influence de la tryptophane-2,3-dioxygénase (TDO) (Liu *et al.*, 2018).

6.1 L'indoleamine-2,3-dioxygénase

IDO1 est une enzyme à hème d'un poids moléculaire d'environ 45 kDa et qui permet la catalyse de la dégradation du Trp en Kyn. Son action correspond à la première étape limitante de cette voie enzymatique (Figure 6). IDO1 est constitutivement exprimée dans plusieurs types cellulaires de multiples tissus. Normalement peu exprimée, IDO1 peut être induite par plusieurs stimuli inflammatoires. Chez un individu en santé, IDO1 est principalement exprimée dans les tissus des muqueuses (Dai et Zhu, 2010) et dans les cellules immunitaires. Durant l'inflammation ou lors d'une infection, IDO1 convertit le Trp se trouvant en proximité, ce qui entraîne également la production de métabolites de kynurénine qui sont également bioactifs. Ces derniers contribuent aux actions physiologiques et pathologiques de IDO1. Cela inclut la diminution de la réponse immunitaire pendant la grossesse, dans l'autoimmunité, dans l'inflammation, dans la progression des cancers ainsi que dans le déclenchement de la réponse immunitaire de l'hôte lors de la présence de microorganismes pathogènes (Yeung *et al.*, 2015). Lors de la grossesse, IDO1 est majoritairement exprimé à l'interface fœtale/maternelle du placenta. L'immunotolérance que crée IDO1 dans son microenvironnement permet donc de prévenir le rejet du fœtus « inconnu », rejet qui est alors dépendant des cellules T effectrices (Munn *et al.*, 1998).

IDO1 a également la capacité d'influencer les cellules à proximité même si ces dernières n'expriment pas IDO1. En effet, certains métabolites produits par la dégradation du Trp ont des effets opposés sur les cellules. Un métabolite peut agir comme un agoniste pour un récepteur, tandis qu'un autre peut agir comme antagoniste pour ce même récepteur (Yeung *et al.*, 2015). Même si le rôle de IDO1 est souvent associé à une protection de l'individu, l'enzyme peut également jouer un rôle contraire en cas de pathologies. En effet, certains cancers et agents microbiens ont la capacité d'échapper à la reconnaissance du système immunitaire via leur production cellulaire de IDO1. La production de IDO1 diminue

l'activité des cellules T effectrices, tandis qu'elle augmente la différenciation des cellules T régulatrices (Yeung *et al.*, 2015).

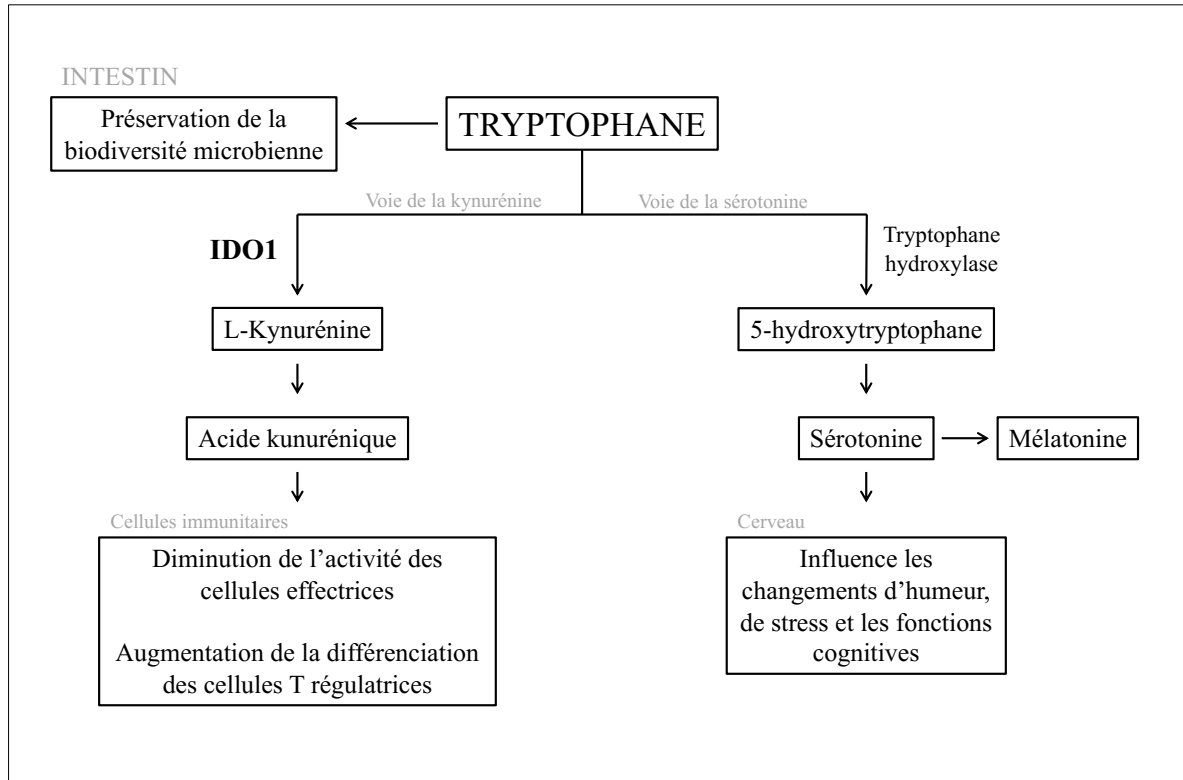


Figure 6 : Voie de la kynurénine. Le tryptophane, provenant des aliments ingérés, est transformé en métabolites de kynurénine via l'action de l'IDO1. L'effet de cette enzyme génère des métabolites de kynurénine comme l'acide kynurénique. Ces derniers, lorsqu'ils sont emmagasinés dans les cellules immunitaires, ont la capacité de diminuer l'activité des cellules effectrices, mais également d'induire la différenciation des cellules T régulatrices. Cela entraîne aussi une augmentation de l'immunotolérance de l'environnement dans lequel IDO1 est exprimée et active.

6.2 IDO1 dans le système digestif

Chez l'adulte, IDO1 est exprimée constitutivement dans l'intestin grêle, le côlon et les ganglions lymphatiques présents dans le mésenchyme. En conditions de base, l'expression de IDO1 est dépendante des microorganismes induisant la sécrétion de l'interféron- γ (IFN- γ) (*Coriobacteriaceae*, les bactéries filamenteuse segmentées, etc.

(Thiemann *et al.*, 2017)) par les cellules immunitaires comme les cellules T CD4⁺. Son action est aussi importante dans le maintien de l'homéostasie en régulant l'immunité de la muqueuse en réponse à la présence de bactéries commensales (Harrington *et al.*, 2008). De plus, lors d'une réponse inflammatoire due à un stress environnemental, l'expression de IDO1 est positivement régulée par la présence de cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- γ , le « *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) » et l'interleukine-1 β (IL-1 β). La production élevée de ces cytokines lors d'une réponse inflammatoire fait également en sorte qu'IDO1 est une des enzymes les plus fortement exprimées dans les MIIs (Ciorba, 2013).

6.3 Le rôle de IDO1 dans l'inflammation intestinale

Une augmentation de l'expression de IDO1 est souvent observée dans les MIIs (Wolf *et al.*, 2004), (Zhou *et al.*, 2012). Une étude dans laquelle les auteurs ont suivi le développement de MIIs chez des patients atteints de la maladie de Crohn ou de colite ulcéreuse a démontré un lien entre le métabolisme du Trp, via l'action de IDO1, et la sévérité de la maladie. En effet, les patients ont montré une expression plus importante des transcrits de *IDO1* dans les phases actives de leur maladie. Le ratio de la quantité de Kyn sur celle de Trp était généralement plus élevé chez les patients en phase active de la maladie (Nikolaus *et al.*, 2017).

Dans le même ordre d'idées, l'invalidation d'*Ido1* ou l'inhibition de son activité au niveau de l'épithélium intestinal réduit la sévérité du phénotype associé à la réponse inflammatoire dans le côlon. En effet, les souris *Ido1*^{-/-} montrent une diminution de l'expression de plusieurs gènes associés à la réponse inflammatoire lorsque non-stimulées. Lorsque soumises à une colite expérimentale par l'utilisation de DSS, les souris *Ido1*^{-/-} montrent un indice de sévérité de la maladie beaucoup moins importante que celles exprimant toujours l'enzyme. L'expression de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires est également diminuée chez les souris *Ido1*^{-/-} dans ces conditions (Shon *et al.*, 2015).

De plus, l'invalidation de *Ido1* réduit les effets négatifs liés à une infection à *Citrobacter rodentium*. En effet, une étude a montré que lors d'une infection avec cette bactérie, les souris déficientes en *Ido1* montrent une perte de poids beaucoup moins

importante que les contrôles associés. D'ailleurs, lors des analyses histologiques, ces mêmes souris ont montré moins d'infiltration de cellules immunitaires, moins de dommages à l'épithélium du côlon et moins d'œdème. Les défauts histologiques des souris *Ido1*^{-/-} étaient fortement réduits en comparaison aux contrôles (Harrington *et al.*, 2008).

Hypothèse de recherche et objectifs

En considérant que NCOR1 influence la réponse inflammatoire, que sa perte rend les souris plus susceptibles à la colite expérimentale aigüe et qu'elle entraîne également la prédiction d'une augmentation de l'expression des transcrits de *Ido1* en condition de base, nous avons émis l'hypothèse de recherche que la perte de *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinal mènerait à une augmentation de la sévérité d'une colite chronique. Pour répondre à cette hypothèse, deux objectifs ont été fixés : 1) Évaluer l'impact de la perte de *Ncor1* chez les souris ayant subi plusieurs cycles de traitement au DSS à une concentration atténuée afin de reproduire le phénotype d'une colite chronique et, 2) Étudier les fonctions de NCOR1 spécifiques à l'épithélium en établissant et caractérisant des lignées d'organoïdes de côlon provenant de souris invalidées pour *Ncor1* (*Ncor1*^{ΔCEI}). Mon projet visait donc à mieux étudier le rôle de NCOR1 en condition d'inflammation chronique, mais également de mieux comprendre le rôle de NCOR1 dans un épithélium isolé en absence des compensations de l'organisme entier.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Expériences réalisées avec le modèle de souris *Ncor1*^{ΔCEI}

*1.1 Génération du modèle *Ncor1*^{ΔCEI}*

Le modèle de souris *Ncor1*Δ*Exon11* a été obtenu en collaboration avec le Dr Auwerx (Yamamoto *et al.*, 2011) de l'école polytechnique fédérale de Lausanne (Laboratory of integrative systems physiology, Lausanne, Suisse). Ce modèle a été croisé avec des souris transgéniques C57BL/6 exprimant la Cre-recombinase sous le promoteur du gène *Vill*, ce qui permet d'exprimer la Cre-recombinase spécifiquement dans les CEIs (12.4Kb*VilCre*) (Madison *et al.*, 2002). Ce croisement permet donc de diriger la perte de NCOR1 uniquement dans l'épithélium intestinal des souris provenant du croisement *Ncor1*Δ*Exon11*^{*fllox/flox*} X *12.4KbVilCre*^{-/+} (*Ncor1*^{ΔCEI}). Toutes les expériences ont été approuvées par le comité de recherche sur les animaux de la Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke (Protocole # 342-17).

1.2 Génotypage des souris

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a été utilisée afin de détecter le transgène *VilCre* et de confirmer l'inclusion des séquences *LoxP* de part et d'autre de l'exon 11 du gène *Ncor1* dans le modèle murin. Dans un premier temps, des bouts d'orteils ont été récoltés chez des souriceaux âgés de 7 jours. Ces tissus ont été dégradés dans 75 µl d'une solution de digestion (25 mM de NaOH et 0,2 mM de d'acide éthylène-diamine-tetra-acétique (EDTA)) pendant 1 heure à 95°C. Après l'incubation, la réaction a été neutralisée avec un volume égal de Tris-HCl (40 mM à pH 5,5). Les échantillons ont été centrifugés à 4000 rpm pendant 3 minutes à température pièce afin de culotter les débris tissulaires. Par la suite, le génotype des souris a été confirmé par PCR (Tableau 1) en utilisant des amorces spécifiques qui permettent de détecter les allèles reliés au génotype (Tableau 2). À chaque 1,5 µl d'échantillon d'orteil digéré, des volumes de 2,5 µl de tampon NEB (New England Biolabs Ltd, Whitby, Canada), 0,2 µl de dNTPs 25 mM, 1 µl d'amorce sens 10 µM (IDT,

Coralville, États-Unis), 1 µl d'amorce anti-sens 10 µM (IDT, Coralville, États-Unis), 0,5 µl de Taq polymérase maison et 18,03 µl d'eau DEPC (Wisent Bioproducts, St-Bruno, Canada) ont été ajoutés. Les produits de PCR ont finalement été migrés sur gel d'agarose (Roche, Laval, Canada) à un pourcentage de 1,5% pendant 30 minutes à 110 volts constants. Le gel a ensuite été révélé aux rayons ultra-violets.

Tableau 1 : Protocole de PCR semi-quantitatif pour génotypage

Génotype	Étape de la réaction	Nombre de cycles	Temps de l'étape (secondes)	Température de la réaction (°C)
<i>12.4KbVilCre</i>	Dénaturation initiale	1	180	94
	Dénaturation	25	30	94
	Hybridation		30	56
	Élongation		30	72
	Élongation terminale	1	300	71
	Conservation	∞	∞	4
<i>Ncor1ΔExon11</i>	Dénaturation initiale	1	300	94
	Dénaturation	40	30	94
	Hybridation		30	62
	Élongation		30	72
	Élongation terminale	1	300	71
	Conservation	∞	∞	4

Tableau 2 : Séquences des amorces pour le génotypage

Gène amplifié	Amorce sens (5' - 3')	Amorce anti-sens (5' - 3')	Taille du produit (pb)
<i>12.4KbVilCre</i>	GCGGCATGGTGCAAGTTGAAT	CGTTCACCGGCATCAACGTTT	232
<i>Ncor1ΔExon11^{ΔCEI}</i>	TTGGCCTTGGAGTAAATGCTGTGAG	GGAAACTACCTACCTGAATCCATGG	346 - allèle LoxP 207 - allèle type sauvage

1.3 Établissement de la colite chronique chimique chez les souris

Une colite chronique chimique a été induite à l'aide du DSS (35-55 kDa, TdB consultancy, Uppsala, Suède) chez des souris âgées de 4 à 7 mois. Dans un premier temps, le DSS a été dilué dans l'eau à une quantité de 1 g pour 100 ml d'eau. Il a ensuite été administré aux souris via leur eau de boisson pour une période de 7 jours. Après cette période, le DSS a été retiré et remplacé par de l'eau de boisson normale pendant une période de récupération de 14 jours. Cet enchaînement DSS-récupération a été répété quatre fois pour un total de 90 jours de traitement (Figure 8). À la deuxième introduction du DSS, la concentration du produit a été augmentée à 1,5 g par 100 ml d'eau, quantité conservée

jusqu'à la fin du traitement. Le poids des souris a été mesuré à tous les jours pendant tout le traitement. Dans l'éventualité où les souris avaient une perte de poids plus importante que 20% (limite établie par le comité éthique de l'expérimentation chez les animaux au moment de réaliser l'expérience), ne mangeaient plus ou montraient d'autres signes de maladie, elles étaient sacrifiées. À la fin de ce traitement, les souris ont été endormies par l'injection de 10 µl de kétamine/xylazine (10 ml de kétamine 100 mg/ml (Narketan, Lavaltrie, Canada) et 1,5 ml de xylazine 100 mg/ml (Xylamax, Cambridge, Canada)) par 10 g de souris. Une fois endormies, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale. Au moment de l'euthanasie, des échantillons de tissus, d'ARNs et de plasma ont été récoltés. Ces expériences ont été réalisées avec des cohortes expérimentales de 25 souris contrôles (12 femelles et 13 mâles, un décès) et de 25 souris *Ncor1*^{ΔCEI} (12 femelles, deux décès et 13 mâles, 5 décès).

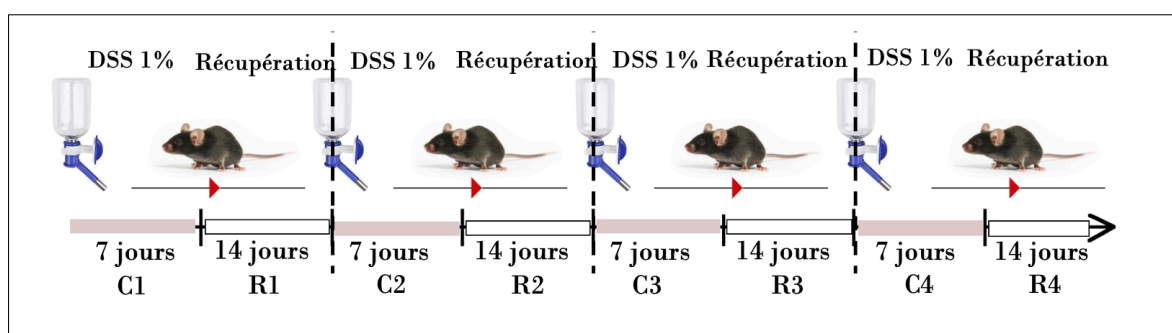


Figure 7 : Établissement de la colite chronique expérimentale par plusieurs cycles d'introduction du DSS dans l'eau de boisson. Ligne de temps du traitement chronique au DSS. La quantité du polysaccharide au premier cycle est de 1 g par 100 ml d'eau. La quantité a été augmentée à 1,5g par 100 ml d'eau à partir du deuxième et est restée constante pour les 3^e et 4^e cycles. Les zones en beige (C1 à C4) représentent les périodes en présence de DSS dans l'eau de boisson des souris. Les zones en blanc (R1 à R4) représentent les périodes de récupération où le DSS est retiré de l'eau de boisson des souris. Le traitement a été effectué sur une période totale de 90 jours.

1.4 Fixation des tissus au formaldéhyde, inclusion dans la paraffine, coupe et coloration et photographie des tissus

Lors du sacrifice des souris, leur côlon a été récolté et lavé dans du *Phosphate-buffered saline* (PBS) 1X (137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 10 mM de Na₂HPO₄ et 2 mM

de K₂PO₄, pH 7,4) froid. Il a été déposé entre deux éponges (Fisher Scientific, Ottawa, Canada) préalablement imbibées dans du PBS 1X. Les tissus et éponges ont été déposés dans une cassette histologique (Fisher Scientific, Ottawa, Canada) et placés à 4°C de 15 à 20 heures dans une solution de paraformaldéhyde (PFA) à quantité de 4 g par 100 ml d'eau. La solution de fixation a été déposée dans un contenant associé aux déchets contenant de la PFA afin d'éviter les contaminations et de s'assurer qu'elle serait jetée selon les règles de laboratoire. Deux lavages à l'éthanol 70% ont été réalisés. Les cassettes ont été entreposées dans l'éthanol 70% à 4°C jusqu'à la circulation et l'inclusion dans la paraffine. Les étapes de circulation et d'inclusion ont été réalisées à la Plateforme d'histologie et de microscopie électronique du Département d'immunologie et de biologie cellulaire de l'Université de Sherbrooke. Les colorations à l'hématoxyline et éosine (H & E), au bleu alcian et au trichrome de Masson ont également été réalisées par cette plateforme. Des photographies histologiques ont été prises via l'utilisation du Nanozoomer (Hamamatsu, Middlesex, États-Unis) et ont été analysées à l'aide du logiciel NDP.view 2 (Hamamatsu, Middlesex, États-Unis). Pour chacune des colorations, un total de ≤ 18 souris mâles (contrôles et *Ncor1*^{ACEI}) et ≤ 22 souris femelles (contrôles et *Ncor1*^{ACEI}) ont été analysées.

1.5 Score histologique des souris malades

Le score histologique des souris malades a été mesuré à l'aide de la coloration H & E et de la grille de l'indice de sévérité de la maladie (Tableau 3) (Cooper *et al.*, 1993). Dans un premier temps, le côlon de chacune des souris a été réparti en portion proximale et distale. Les paramètres de grossissement ont ensuite été ajustés à 7X afin de diviser chaque segment en 10 champs totaux. Cela permettait ainsi d'analyser la plus grande superficie possible. Les scores histologiques ont été évalués selon trois critères précis : la sévérité de l'inflammation, l'étendue de l'inflammation et les dommages aux cryptes (Tableau 3). La moyenne des 10 champs de chaque segment a finalement été rapportée en graphique où les valeurs sont représentées en moyenne ± erreur standard.

Tableau 3 : Grille d'évaluation de la sévérité de la maladie

Critère évalué	Échelle	Aspect macroscopique
Sévérité de l'inflammation	0	Aucune inflammation
	1	< 25% du tissu (Faible)
	2	25 > 50% du tissus (Modéré)
	3	> 50% du tissus (Sévère)
Étendue de l'inflammation	0	Aucune
	1	Atteinte à la muqueuse
	2	Atteinte à la sous-muqueuse
	3	Atteinte transmurale
Dommages aux cryptes	0	Aucun
	1	Atteinte au premier 1/3 du bas des cryptes
	2	Atteinte au 2/3 du bas des cryptes
	3	Seulement l'épithélium du bas restant
	4	Aucun épithélium sain

1.6 Qualification et quantification de la fibrose

La fibrose présente au niveau du côlon des souris malades a été évaluée à l'aide de la coloration au trichrome de Masson. Avec l'utilisation de trois colorants, cette coloration permet de visualiser les muscles (rouge), les fibres de collagène (bleu), les érythrocytes (rouge) et les noyaux (noir). Le côlon de chacune des souris a été réparti en portion proximale et distale. Les paramètres de grossissement ont été ajustés 7X afin d'obtenir 8 champs par segment et l'intensité de la coloration bleue a été évaluée.

Une étude quantitative a également permis de mesurer le pourcentage de la coloration bleue par rapport à l'aire totale du tissu dans le champ analysé (Chen *et al.*, 2017). Dans un premier temps, chaque photographie de champ a été insérée dans le logiciel FiJi (NIH, Bethesda, États-Unis). Après le transfert, l'échelle numérique de la photographie a été ajustée dans le logiciel attribuant alors un nombre de pixel à une mesure précise déterminée par le logiciel NDP.view 2. L'image a été convertie au type « *RGB-Color* ». L'image a été déconvulsionnée selon les algorithmes intégrés du logiciel associés à la coloration au trichrome de Masson. Cette étape a permis de séparer l'image en trois fenêtres : une où le tissu est coloré en vert, une en rouge et une en bleu. Le périmètre du tissu de la fenêtre verte a été tracé et l'aire associée à celui-ci a été mesurée par le logiciel. Les seuils de détection

d'intensité de la coloration verte ont ensuite été déterminés (entre 215 et 235) et conservés pour l'ensemble des images analysés. L'aire correspondant aux pixels compris dans les limites du seuil déterminé a finalement été mesurée. Cette mesure correspond également aux fibres de collagène colorées en bleu dans le tissu présent dans le champ. Le pourcentage de fibrose de chaque champ a été déterminé par le ratio de l'aire des fibres de collagène divisée par l'aire totale du tissu. Ce ratio a ensuite été multiplié par le facteur 100 (Chen *et al.*, 2017). La moyenne des 8 pourcentages de chaque segment a finalement été rapportée en graphique où les valeurs sont représentées en moyenne \pm erreur standard.

1.7 Décompte des cellules caliciformes et mesure de la profondeur des cryptes des côlons des souris malades

Le côlon de chacune des souris a été réparti en portion proximale et distale. Les paramètres de grossissement ont été ajustés à 13X. Un total de 20 cryptes a été analysé afin d'obtenir la moyenne du nombre de cellules caliciformes par micromètre (μm) de crypte (4 à 8 champs) par segment. La profondeur de chacune des 20 cryptes a été mesurée à l'aide du logiciel FiJi. Chacune des cellules caliciformes, visible grâce à la coloration au bleu alcian réalisée par la Plateforme d'histologie et de microscopie électronique du Département d'immunologie et de biologie cellulaire de l'Université de Sherbrooke, présente dans la crypte, a été comptée avec l'outil intégré dans le logiciel FiJi. Le nombre de cellules caliciformes total a été divisé par la mesure de la profondeur de la crypte associée, ce qui a permis d'obtenir le nombre de cellules/ μm dans le côlon proximal et le côlon distal. La moyenne des 20 valeurs de chaque segment a finalement été rapportée en graphique où les données sont représentées en moyenne \pm erreur standard.

2. Expériences réalisées avec les colonoïdes

2.1 Établissement des lignées de colonoïdes

Le côlon des souris contrôle et *Ncor1*^{ACEI} a été prélevé et coupé de façon longitudinale. Le côlon a été coupé en 4 morceaux d'environ 1 à 2 centimètres. Ces derniers ont été mis dans un tube conique de 50 ml où un volume de 25 ml de « *Dulbecco's phosphate*

buffered saline 1X (D-PBS) » (Wisent Bioproducts, St-Bruno, Canada) propre et froid avait préalablement été versé. Les morceaux de côlon ont été brassés de façon moyennement vigoureuse pour ne pas endommager les cryptes. Lorsque le D-PBS 1X devenait trouble, il était remplacé par du propre, toujours froid. Jusqu'à 10 lavages ont ainsi été réalisés ou jusqu'à ce que le D-PBS 1X reste clair après changement et brassage. 20 ml d'acide éthylène-diamine-tetra-acétique (EDTA) (Sigma Aldrich, Oakville, Canada) frais à une concentration de 5 mM ont ensuite remplacés le D-PBS 1X dans le tube conique. Ce tube a été incubé sur glace pendant 1 heure avec agitation.

Après cette incubation, les bouts de côlon ont été déposés dans un Pétri propre contenant 10 ml de D-PBS 1X froid. Les bouts de côlon ont été orientés afin que l'épithélium soit vers le haut. À l'aide de pinces à embout courbé, l'épithélium a été gratté afin de le décoller. Les cryptes se retrouvaient alors en suspension dans le D-PBS 1X. La suspension totale a été transférée dans un tube conique de 50 ml. À l'aide d'un 10 ml de D-PBS 1X froid supplémentaire, le Pétri a été rincé et le liquide transféré dans le même tube conique. Les cryptes ont été isolées de la suspension épithéliale en les passant sur un tamis cellulaire (Corning, Durham, États-Unis) ayant des pores de 70 µm et la fraction a été conservée dans un nouveau tube conique de 50 ml. La fraction a ensuite été centrifugée à une vitesse de 1500 x g pendant 5 minutes à 4°C. Le surnageant a été jeté. Le culot a été lavé 3 fois avec du milieu de culture Advanced DMEM F/12 (Gibco™, Montréal, Canada) froid et stérile, où 2 mM de Glutamax (Gibco™, Montréal, Canada), 0,01 M d'HEPES (Gibco™, Montréal, Canada) et 100 U/ml de Penicilline/Steptavidine (Wisent Bioproducts, St-Bruno, Canada) avaient préalablement été ajoutés. Après les lavages, le culot a été resuspendu dans environ 500 µl de *Growth Factor Reduced Matrigel* (Matrigel) (VWR, Mississauga, Canada) froid et stérile. Les cryptes ont finalement été ensemencées dans un volume de 20 µl dans des plaques 48 puits (VWR, Mississauga, Canada). Afin de laisser polymériser le Matrigel, les rondelles de cryptes ont été incubées pendant un minimum de 15 minutes à 37°C.

Après cette incubation, un volume de 250 µl de milieu de culture WENR a été ajouté à chacune des rondelles de colonoïdes. Ce dernier est composé de 30% de milieu Advanced DMEM F/12, 50% de milieu conditionné en Wnt3a (Milieu conditionné fait maison), 10%

de milieu conditionné en Noggin (Milieu conditionné fait maison), 10% de milieu conditionné en R-spondin 1 (Milieu conditionné fait maison), 20 µg/ml de *Epidermal Growth Factor* (EGF), 800 mM de n-Acetylcystéine (Sigma Aldrich, Oakville, Canada), 2,5X de *B-27 supplement (50X) serum free* (LifeTechnologies, Montréal, Canada), 1X de *N-2 supplement (100X)* (LifeTechnologies, Montréal, Canada) et du Y-hydrochloride (27632) 3,4 mg/ml (Cayman, Burlington, Canada) à une dilution de 1 :1000. Le milieu de culture des colonoïdes a été changé aux trois jours et les colonoïdes ont été passés aux 7 à 9 jours.

2.2 Passage des colonoïdes

Après 7 à 9 jours de croissance, le milieu de culture des colonoïdes a été aspiré. Un volume de 1ml de Advanced DMEM F/12 a été ajouté à tous les 4 puits. Les colonoïdes ont été grattés et rassemblés dans un tube conique de 15 ml où 3 ml de milieu Advanced DMEM F/12 avait été versé. Un total de 12 puits ont été rassemblés pour obtenir un volume total de 6 ml de suspension de colonoïdes. Le tube conique a ensuite été déposé sur la glace jusqu'à utilisation. Ce processus a été répété jusqu'à ce que l'entièreté de la (ou des) plaque(s) ait été vidée de leurs colonoïdes. Un embout non-filtré de micropipette p200 a été ajouté au bout d'une pipette sérologique de 5 ml. Afin de réduire l'adhérence des colonoïdes aux parois de la pipette sérologique de 5 ml lors du passage, un volume de 8 ml de milieu de culture contenant du « *fœtal bovine serum* (FBS) » (Wisent Bioproducts, St-Bruno, Canada) à une concentration de 10% (m/v) a été aspiré et rejeté. Un total de 17 pipetages de haut en bas ont été réalisés avec la suspension de colonoïdes avec la pipette sérologique enduite de sérum afin de dissocier les colonoïdes. Les colonoïdes brisés ont été rassemblés dans un tube conique de 50 ml où un volume égal de advanced DMEM F/12 a été ajouté. Ils ont ensuite été centrifugés à 1550 x g pendant 5 minutes à 4°C. Le surnageant a été aspiré et le culot a été resuspendu dans un volume prédéfini de Matrigel froid jusqu'à une dilution possible de 1 : 3. Ce volume a préalablement été déterminé en fonction de la confluence des colonoïdes. Les colonoïdes ont étéensemencés dans 20 µl de Matrigel et incubés à 37°C pendant un minimum de 15 minutes. Finalement, un volume de 250 µl de milieu de culture WENR (voir ***Établissement des lignées de colonoïdes***) a été ajouté à chacun de puits. Le milieu de culture a été changé à tous les 3 jours et les colonoïdes ont été repassés après 8 jours de croissance.

2.3 Congélation des colonoïdes

Tout comme avec le passage après 8 jours de croissance, le milieu de culture a été aspiré et 1ml de milieu de congélation (Gibco™, Montréal, Canada) a été ajouté à tous les 4 puits. 4 puits de colonoïdes ont été grattés et rassemblés dans un tube de congélation (Thermo Fisher Scientific, Montréal, Canada). Ces tubes ont été mis dans un « *Mr. Frosty* » et rangés à -80°C. Après un minimum de 74 heures, les tubes de colonoïdes congelés ont été mis dans l'azote liquide jusqu'à leur utilisation.

2.4 Décongélation des colonoïdes

Les tubes de congélation contenant 1ml de suspension de colonoïdes congelés ont été rapidement dégelés dans un bain à 37°C. Une fois dégelé, le 1ml contenant les colonoïdes a été transféré dans un tube conique de 15 ml où 1 ml de advanced DMEM F/12 avait préalablement été versé et le tube conique a été mis sur la glace jusqu'à utilisation. Un embout non-filtré de micropipette p200 a été inséré au bout d'une pipette sérologique de 2 ml. Un volume de 4 ml de milieu de culture contenant du FBS à une concentration de 10% a été aspiré et rejeté. 2 à 3 pipetages de haut en bas ont été effectués dans la suspension de colonoïdes afin de les dissocier. Un volume égal de advanced DMEM F/12 a été ajouté au tube conique et les colonoïdes ont été centrifugés à 1550 x g pendant 5 minutes à une température de 4°C. Le culot a été resuspendu dans 160 µl de Matrigel froid et les rondelles de colonoïdes ont été incubé à 37°C pendant un minimum de 15 minutes. Un volume de 250 µl de milieu de culture WENR (voir ***Établissement des lignées de colonoïdes***) a été ajouté. Aux trois jours, le milieu de culture a été changé pour 250 µl de milieu WENR où du Nicotinamide (Sigma Aldrich, Oakville, Canada) à une concentration finale de 10 mM et du CHIR99021 (Axon Medchem BV, Burlington, Canada) à une concentration finale de 5 µM ont été ajoutés. Les changements de milieu se sont effectués avec ce milieu jusqu'au prochain passage. Après le passage, le milieu conventionnel WENR (voir ***Établissement des lignées de colonoïdes***) a été utilisé.

2.5 Capture d'image des colonoïdes en contraste de phase

Après 6 jours de croissance, des images de colonoïdes en conditions de base ont été capturées à l'aide du microscope *Cell Discoverer 7* (Carl Zeiss Canada Ltd, Dorval, Canada).

La plaque a été insérée dans l'appareil qui avait préalablement été configuré pour avoir une température interne de 37°C avec 5% de CO₂. Cette étape, ainsi que les suivantes, se sont réalisées à l'aide du logiciel *ZEN blue* (Carl Zeiss Canada Ltd, Dorval, Canada). Lorsque la plaque a été insérée, tous les onglets de détection automatique ont été enlevés afin de pouvoir ajuster le focus sur les colonoïdes. Sur chacune des rondelles, un balayage sous l'axe Z a été effectué entre 2250 µm et 2700 µm à des intervalles de 25 µm pour un grossissement de 5X et à intervalle de 12 µm pour un grossissement de 10X. En parallèle, l'entièreté de chaque rondelle a été capturée à l'aide de l'outil « *elliptical tile* ». Le contenu de 2 à 3 rondelles de colonoïdes a été photographié.

2.6 Mesure du diamètre des colonoïdes

Après l'acquisition des images de colonoïdes à 7 jours de croissance après un passage, leur diamètre a été mesuré à l'aide du logiciel *ZEN blue*. Pour ce faire, une ligne droite a été tracée d'une extrémité à l'autre du colonoïde avec l'outil « ligne droite » intégré dans le logiciel. Cet outil permet également de mesurer la longueur de la ligne tracée en µm en fonction de l'échelle associée au grossissement auquel l'image a été acquise. Le diamètre de 149 colonoïdes contrôles (0029) et 163 colonoïdes invalidés pour *Ncor1* (0028) a été mesuré. La distribution de ces mesures a ensuite été représentée dans un diagramme en pointes de tarte.

2.7 Récolte du milieu de culture des colonoïdes

Après un nombre de jours prédéterminés de croissance des colonoïdes, le milieu de culture a été récolté. Pour ce faire, ce dernier a été aspiré avec une micro-pipette p1000. Les milieux récoltés ont été rassemblés dans un tube conique de 15 ml pour un volume total de 3 ml (12 puits) et les tubes ont été conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

2.8 Récolte d'ARNs des colonoïdes

Après un nombre de jours prédéterminés de croissance des colonoïdes, des échantillons d'ARN totaux ont été préparés. Pour ce faire, le milieu de culture des colonoïdes a été aspiré et un volume de 1 ml de *Cell Recovery Solution* (Corning, Durham, États-Unis) a été ajouté à tous les 4 puits. 12 puits de colonoïdes ont été grattés et rassemblés dans un

tube conique de 15 ml où un volume de 1,5 ml de *Cell Recovery Solution* avait préalablement été versé. Les échantillons ont été incubés à 4°C pendant 30 minutes avec agitation. Après l'incubation, ils ont été centrifugés à 3000 x g pendant 5 minutes à 4°C. Le surnageant a été aspiré et le culot a été lavé 2 fois avec 8 ml de PBS 1X froid. Les échantillons ont été centrifugés à 3000 x g pendant 5 minutes à 4°C. Le surnageant a été aspiré et le culot de chaque échantillon resuspendu dans 350 µl de Tampon RLT (Qiagen, Toronto, Canada) où 3,5 µl de β-mercapto-éthanol (Sigma Aldrich, Oakville, Canada) avait été ajouté. Les échantillons ont été conservés à -80°C jusqu'à l'extraction des ARNs.

2.9 Récolte et préparation de protéines de colonoïdes

Après un nombre de jours de croissance prédéterminés, des échantillons de protéines de colonoïdes ont été récoltés et préparés. Le milieu de culture a premièrement été aspiré et un volume de 1 ml de *Cell Recovery Solution* a été ajouté à tous les 4 puits. Les organoïdes de 12 puits ont été grattés et rassemblés dans un tube conique de 15 ml où 1,5 ml de *Cell Recovery Solution* avait préalablement été versé. Les échantillons ont été incubés pendant 30 minutes à 4°C avec agitation et ensuite centrifugés à 3000 x g pendant 5 minutes toujours à la même température. Le surnageant a été aspiré et le culot de chaque échantillon a été lavé 2 fois dans 8 ml de PBS 1X froid. Finalement, le surnageant a été aspiré et le culot a été resuspendu dans 50 µl à 100 µl de tampon de lyse RIPA 1X (50 mM de Tris à pH 7,5, 150 mM de NaCl, 1% (m/v) de Nonidet P40, 0,5% de Triton X-100, 1 mM de EDTA, 0,2% (m/v) de SDS et 0,5% de sodium déoxycholate) frais où des inhibiteurs de protéases (1X de cocktail d'inhibiteurs de protéases, 0,2 mM d'orthovanadate et 50 mM de NaF) ont été ajoutés. Les échantillons ont ensuite été conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

3. Quantification de la Kynurénine par ELISA

Afin de quantifier le produit de l'activité enzymatique de IDO1 chez les souris chroniquement malades et dans le milieu de culture des colonoïdes, une trousse ELISA commerciale contre la kynurénine (Black Mountain, Burlington, Canada) a été utilisée selon le protocole fourni. En résumé, 20 µl de chaque standard et échantillon ont été déposés dans la plaque de 96 puits. 250 µl de l'*Acylation Buffer* et 25 µl de l'*Acylation Reagent* ont été

ajoutés à chaque standard et échantillon. La plaque a été incubée pendant 90 minutes à 37°C. Cette étape permet d'acyler la kynurénine afin de pouvoir la détecter par la suite. Après l'incubation, 20 µl de chaque standard et échantillon maintenant acylés ont été déposés dans des *Kynurenine Microtiter Strips*. 50 µl de *Kynurenine anti-serum* ont été ajoutés à chaque puits contenant un standard ou un échantillon. Une pellicule plastique a été posée sur la plaque et elle a été incubée pendant 15 à 20 heures à 4°C sur un agitateur à une vitesse d'environ 600 rpm. Le contenu des puits a été aspiré et les puits lavés 4 fois avec 300 µl de *Washing Buffer*. 100 µl de l'*Enzyme Conjugate* ont été ajoutés à chaque puits. La pellicule plastique a été posée sur la plaque et elle a été incubée pendant 30 minutes à température pièce sur un agitateur à environ 600 rpm. Le contenu des puits a été aspiré et les puits lavés 4 fois avec 300 µl de *Washing Buffer*. 100 µl de *Substrate* ont été ajoutés à chaque puits. Une pellicule plastique a été posée sur la plaque et elle a été incubée pendant 20 à 30 minutes à température pièce sur un agitateur à environ 600 rpm et à l'abris de la lumière. Finalement, 100 µl de *Stop solution* ont été ajoutés à chaque standard ou échantillon et l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 450 nm. La concentration en kynurénine dans chaque échantillon a été déterminée à l'aide de la courbe standard de polynomiale 4.

4. Quantification du Tryptophane par ELISA

Afin de quantifier le tryptophane circulant chez les souris au terme du traitement chronique au DSS et dans le milieu de culture des colonoïdes, une trousse ELISA commerciale contre le tryptophane (Black Mountain, Burlington, Canada) a été utilisée selon le protocole fourni. En résumé, 20 µl de chaque standard et échantillon ont été déposés dans un microtube de 1,7 ml (Froglab, Concord, Canada). 200 µl de PBS 1X et 25 µl de *Precipitating reagent* ont été ajoutés à chaque tube et ils ont été mélangés par vortex pendant quelques secondes pour s'assurer de l'homogénéité des échantillons. Les tubes ont été centrifugés à 3000 x g pendant 15 minutes à température pièce. 25 µl du surnageant de chaque standard et échantillon ont été déposés dans un puit de la plaque de 96 puits. 50 µl de l'*Equalizing Reagent* et 10 µl du *D-Reagent* ont été ajoutés à chaque puits contenant un standard ou un échantillon. Une pellicule plastique a été posée sur la plaque et elle a été incubée pendant 2 heures à température pièce sur un agitateur à environ 600 rpm. 100 µl du

Q-Buffer ont été ajoutés à chaque puits, la pellicule a été redéposée sur la plaque et incubée pendant 10 minutes à température pièce à environ 600 rpm. 25 µl de chaque standard et échantillon préparés ont été déposés sur les *Tryptophan Microtiter Strips*. 50 µl du *Tryptophan anti-serum* ont été ajoutés à chaque standard et échantillon, une nouvelle pellicule plastique a été posée sur la plaque et elle a été incubée pendant 15 à 20 heures à 4°C sur un agitateur à environ 600 rpm. Le contenu des puits a été aspiré et les puits ont été lavés 3 fois avec 300 µl de *Washing Buffer*. 100 µl de l'*Enzyme Conjugate* ont été ajoutés à chacun des puits, la pellicule plastique a été redéposée sur la plaque et elle a été incubée pendant 30 minutes à température pièce sous agitation à environ 600 rpm. Le contenu des puits a été aspiré et les puits ont été lavés 3 fois avec 300 µl de *Washing Buffer*. 100 µl du *Substrate* ont été ajoutés, la plaque a été recouverte de la pellicule plastique et incubée à température pièce pendant 20 à 30 minutes sur un agitateur à environ 600 rpm et à l'abris de la lumière. 100 µl de la *Stop Solution* ont finalement été ajoutés et l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 450 nm. La concentration en tryptophane de chaque échantillon a été déterminée à l'aide de la courbe standard de polynomiale 4.

5. Extraction et dosage des ARNs totaux

L'extraction des ARNs totaux a été réalisée avec la trousse commerciale RNeasy® Mini Kit (250) (Qiagen, Toronto, Canada) et selon le protocole fourni. En résumé, un volume égal d'éthanol 70% a été ajouté à 350 µl d'échantillon. Le volume total a été ajouté aux colonnes fournies dans la trousse et elles ont été centrifugées à $\geq 10\,000$ rpm pendant 30 secondes. L'éluat a été jeté et 700 µl de tampon RW1 ont été ajoutés aux colonnes et elles ont été centrifugées à $\geq 10\,000$ rpm pendant 30 secondes. L'éluat a été jeté et 500 µl de tampon RPE (où de l'éthanol 100% avait été préalablement ajouté) ont été ajoutés aux colonnes et elles ont été centrifugées à $\geq 10\,000$ rpm pendant 30 secondes. Cette étape a été répétée, mais les colonnes ont été centrifugées pendant 1 minute à la même vitesse. L'éluat a été jeté et les colonnes ont été centrifugées à vitesse maximale pendant 2 minutes pour les assécher. Les ARNs totaux ont été élués avec 30 µl à 50 µl d'eau *RNase free* dans un micro-tube de 1,7 ml par centrifugation à $\geq 10\,000$ rpm pendant 1 minute, déposés sur glace et

dosés au NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Montréal, Canada). L'entièreté de ces étapes a été réalisée avec des embouts filtrés pour limiter l'action des RNases.

6. Réaction de transcription inverse

Les ADNc des ARNm extraits ont été produits par l'action de l'enzyme de la transcriptase inverse (RT) (Invitrogen, Montréal, Canada). Pour ce faire, 1 µg d'ARN total et 1 µl d'EDTA 50 mM ont été ajoutés à de l'eau DEPC pour un volume final de 10 µl. Des volumes de 2,4 µl d'Oligo dT (0,5 µg/µl) et 0,8 µl de dNTPs (25 mM) ont été ajoutés à chacun des échantillons. Ces derniers ont été incubés à 75°C pendant 5 minutes afin de dénaturer les structures secondaires. Les échantillons ont ensuite été rapidement déposés sur la glace pour 5 minutes. Après ce temps, 4 µl de Tampon SSIV 5X (Invitrogen, Montréal, Canada), 1 µl de DTT 100 mM (Invitrogen, Montréal, Canada), 0,6 µl de *Protease RNase inhibitor* (Invitrogen, Montréal, Canada) et 1,7 µl de RT Superscript diluée 1 :10 (Invitrogen, Montréal, Canada) ont été ajoutés à chaque échantillon. Un *master mix* a été préparé pour avoir une quantité uniforme de produits pour chaque échantillon. Ces derniers ont été incubés dans un bain à une température de 50°C pendant 1 heure. À la fin de l'incubation, l'enzyme a été inactivée par une incubation de 5 minutes à 95°C. À chacun des échantillons, un volume de 180 µl d'eau « *RNase free* » et « *DNase free* » a été ajouté pour avoir une concentration finale de 5 ng/µl d'ADNc.

7. PCR quantitatif en temps réel

Pour effectuer les PCRs quantitatifs en temps réel, l'appareil Light Cycler 96 (Roche, Laval, Canada) et la trousse « *Fast Start SYBR Green Master* » (Roche, Laval, Canada) ont été utilisés. Pour chaque échantillon, 6 µl d'eau DEPC, 1 µl d'amorce sens spécifique (IDT, Coralville, États-Unis) (Tableau 4), 1 µl d'amorce anti-sens spécifique (IDT, Coralville, États-Unis) (Tableau 4) et 10 µl de *SYBR Green* ont été ajoutés. Un *master mix* a été préparé pour avoir une quantité uniforme de produits dans chacun des échantillons. 18 µl de ce mélange ont été ajoutés aux puits d'une plaque 96 puits (Roche, Laval, Canada). 2 µl d'ADNc ont été ajoutés et la réaction a été lancée (Tableau 5).

Tableau 4 : Liste des amorces spécifiques utilisées pour l'amplification des transcrits

Gène amplifié	Amorce sens (5' - 3')	Amorce anti-sens (5' - 3')	Taille du produit (pb)
TBP	GGGGAGCTGTGATGTGAAGT	GGAGAACAATTCTGGGTTTGA	132
<i>Ncor1</i> (Exon 10 et Exon 12)	GAGAAGCAAATGCGTCAGC	CCTTCTCACGAGGGCCTTAT	243
<i>Ido1</i>	GTCTGGGACACCCCAAAAAT	GGCTGGAGGCATGTACTCTC	153
<i>Muc2</i>	CTTCAATTGGTCCTGTCCAT	CCTGTCTGGGAGGATCAAAA	215
<i>Cxcl1</i>	ACCCCAAACCGAAGTCATAGC	GTCAGAAGCCAGCGTTCAC	172

Tableau 5 : Protocole d'amplification des transcrits par PCR quantitatif en temps réel

Étape de la réaction	Nombre de cycles	Temps de l'étape (secondes)	Température de la réaction (°C)
Préincubation	1	600	95
Dénaturation	45	10	95
Hybridation		30	60
Élongation		20	72
Courbe de fusion	1	10	95
		60	65
		1	97
Refroidissement	1	30	37

8. Immunobuvardage

Les échantillons ont été dégelés sur glace et par la suite soniqués 2 fois avec le *Sonic Dismembrator ULTRASONIC PROCESSOR* (Fisher Scientific, Ottawa, Canada) pendant 10 secondes à une amplitude de 20%. Les lysats cellulaires ont été centrifugés à 13 500 rpm pendant 10 minutes à 4°C et le surnageant a été récupéré. Les protéines ont été dosées à l'aide du protocole BCA (Thermo Fisher Scientific, Montréal, Canada) et l'absorbance a été mesurée au spectromètre à une longueur d'onde de 562 nm. La concentration de chaque échantillon a été déterminée avec la courbe standard.

Les échantillons ont ensuite été préparés afin de déposer 25 µg de protéines sur un gel SDS-Page *NuPage* (Invitrogen, Montréal, Canada). Le volume des échantillons a été complété à 13 µl avec de l'eau distillée. À chaque échantillon, 5 µl de *LDS Sample Buffer (4X)* (Invitrogen, Montréal, Canada) et 2 µl de *Sample Reducing Agent (10X)* (Invitrogen,

Montréal, Canada) ont été ajoutés pour un volume total de 20 µl. Les échantillons ont été chauffés pendant 10 minutes à 75°C. Les échantillons ont ensuite été déposés sur gel accompagnés de 5 µl de standard protéique *Novex® Sharp Pre-stained Protein standard* (Invitrogen, Montréal, Canada). Un gel de 3-8% Tris-acétate a été utilisé pour la détection de la protéine NCOR1, tandis qu'un gel Bis-Tris de 4-12% a été utilisé pour la détection de IDO1. Le gel de 3-8% a été migré pendant 75 minutes à 150 Volts constants dans un tampon TA 1X (50 mM de Tricine, 50 mM de Tris basique, 0,1% de SDS et 1 mM d'EDTA, pH 8,24) (Invitrogen, Montréal, Canada) où un volume d'antioxydant (Invitrogen, Montréal, Canada) avait préalablement été ajouté. Le gel de 4-12% a été migré pendant 50 minutes à 200 Volts constants dans un tampon MOPS 1X (50 mM MOPS, 50 mM Tris base, 0,1 % SDS, 1 mM EDTA, pH 7,7) (Invitrogen, Montréal, Canada) où un volume d'antioxydant (Invitrogen, Montréal, Canada) avait préalablement été ajouté. Après la migration, les protéines ont été transférées sur une membrane de PVDF (Roche, Laval, Canada) pendant 2 heures à 30 Volts constants pour les gels de 3-8% et pendant 1 heure à 30 Volts constants pour les gels de 4-12%. Cette étape s'est effectuée dans un tampon de transfert 1X (25 mM de Bicine, 25 mM de bis tris et 1 mM d'EDTA à pH 7,2) (Invitrogen, Montréal, Canada) où l'antioxydant a aussi été ajouté.

La membrane a été colorée au rouge ponceau pour visualiser la qualité du transfert des protéines. Elle a ensuite été nettoyée à l'eau distillée pour enlever le plus de teinture rouge possible. La membrane a été lavée 2 fois avec du TBST 1X (*Tris-buffered saline*) (20 mM de Tris, 137 mM de NaCl, 0,1% de Tween® 20 à pH 7,6) (Fisher Scientific, Ottawa, Canada). La membrane a été bloquée pendant 45 minutes à température pièce dans un solution de blocage composée de 5% de lait en poudre (Carnation, Markham, Canada) et TBST 1X à température pièce. Après le blocage, les membranes ont été incubées avec l'anticorps primaire dilué dans la solution de blocage (Tableau 6).

À la suite de cette incubation, la membrane a été lavée 2 fois rapidement et 2 autres fois pendant 15 minutes dans du TBST à température pièce avec agitation. Elle a ensuite été incubée avec l'anticorps secondaire (Tableau 6). La membrane a été lavée 2 fois rapidement et 3 autres fois pendant 15 minutes dans du TBST à température pièce avec agitation. Les

antigènes ont été révélés avec la trousse de l'ECL prime (GE Healthcare, Mississauga, Canada). De façon générale, la solution A de la trousse a été mélangée avec un volume égal de la solution B. La membrane de PVDF a été incubée pendant 2 minutes dans le mélange solution A/solution B. Finalement, la membrane a été exposée sur un film autoradiographique (GE Healthcare, Mississauga, Canada). Les deux dernières étapes se sont faites en chambre noire.

Tableau 6 : Dilution des anticorps utilisés

Nom de la protéine	Anticorps primaire	Poids de la protéine (kDa)	Anticorps secondaire
NCOR1	Abcam (ab3482) 1µg/ml (1:700), lait 5% TBST 0,1%, O/N à 4°C	270	Anti-Rabbit-HRP, Cell Signaling (7074), 1:10 000, 45 minutes à TP
IDO1	Cell Signaling (D7Z7U) 1µg/ml (1:1000), lait 5% TBST 0,1%, O/N à 4°C	43	Anti-Rabbit-HRP, Cell Signaling (7074), 1:10 000, 45 minutes à TP
β-Actine	Millipore (MAB1501R) 0,1µg/ml (1:10 000), lait 5% TBST 0,1%, O/N à 4°C	45	Anti-Mouse-HRP, Cell Signaling (7076), 1:10 000, 45 minutes à TP

9. Analyses statistiques

Afin d'évaluer la significativité entre les données, des analyses statistiques Mann-Whitney ont été réalisées avec le logiciel GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, États-Unis) à moins d'une autre spécification dans la légende. Les données ont été compilées et exprimées en fonction de la moyenne \pm erreur standard.

Chapitre 3 : Résultats

1. Rôle de NCOR1 dans la réponse inflammatoire en condition chronique

1.1 Établissement de la colite chronique

Une équipe a précédemment montré que NCOR1 avait un rôle important dans la protection de l'épithélium intestinal dans un contexte de colite expérimentale aigüe. En effet, les souris invalidées pour le gène *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinal (*Ncor1*^{ΔCEI}) et soumises à un traitement DSS montraient une perte de poids plus élevée et des signes d'inflammation plus importants que les souris contrôles soumises au même traitement (Mennillo *et al.*, 2020). Des résultats analogues ont également été obtenus dans le laboratoire où les animaux *Ncor1*^{ΔCEI} montraient un indice de la maladie plus élevé lorsque comparés aux contrôles (Loiselle, A., Mémoire, <http://hdl.handle.net/11143/11521>). Ces résultats permettent donc de mieux comprendre l'importance de NCOR1 dans un contexte d'inflammation aigüe. En revanche, ce rôle est-il transposé chez les souris en condition de pathologie chronique? C'est pourquoi un modèle de colite chronique expérimentale a été généré par l'introduction du DSS à un pourcentage moins élevé permettant ainsi la réintroduction du polysaccharide sous plusieurs cycles espacés entre des périodes de récupération, mimant ainsi la maladie de la colite ulcéreuse chez l'humain.

Au cours de cette expérimentation, il a été possible d'observer une perte de poids plus importante chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} que chez les contrôles (Figure 8). Cette perte de poids fut plus importante lors de la deuxième introduction du DSS et de façon plus prononcée chez les mâles *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 8A). Dans certains cas, des souris ont dû même être sacrifiées, car leur perte de poids avait dépassé la limite établie de 20% par rapport à leur poids initial (Figure 8). De façon plus précise, chez les femelles, 2 souris *Ncor1*^{ΔCEI} sur 12 (17%) et aucune souris contrôle sur les 12 traitées ont été sacrifiées au cours du traitement chronique au DSS. Chez les mâles, 5 souris *Ncor1*^{ΔCEI} sur 12 (42%) et 1 souris contrôle sur 12 (8%) ont été sacrifiées. Ces résultats suggèrent donc que les souris *Ncor1*^{ΔCEI} seraient plus susceptibles au DSS que les souris contrôles. D'ailleurs, plus la maladie s'installe, plus il est

difficile pour les souris *Ncor1*^{ΔCEI} de compenser la perte de poids induite par la présence de DSS. Cette mauvaise récupération est plus importante chez les femelles *Ncor1*^{ΔCEI} que chez les mâles survivants à la fin du traitement (Figure 8, R4). Ces résultats indiquent que la perte de *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinal rend les souris plus susceptibles au DSS, ce qui entraîne également une perte de poids plus prononcée chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 8).

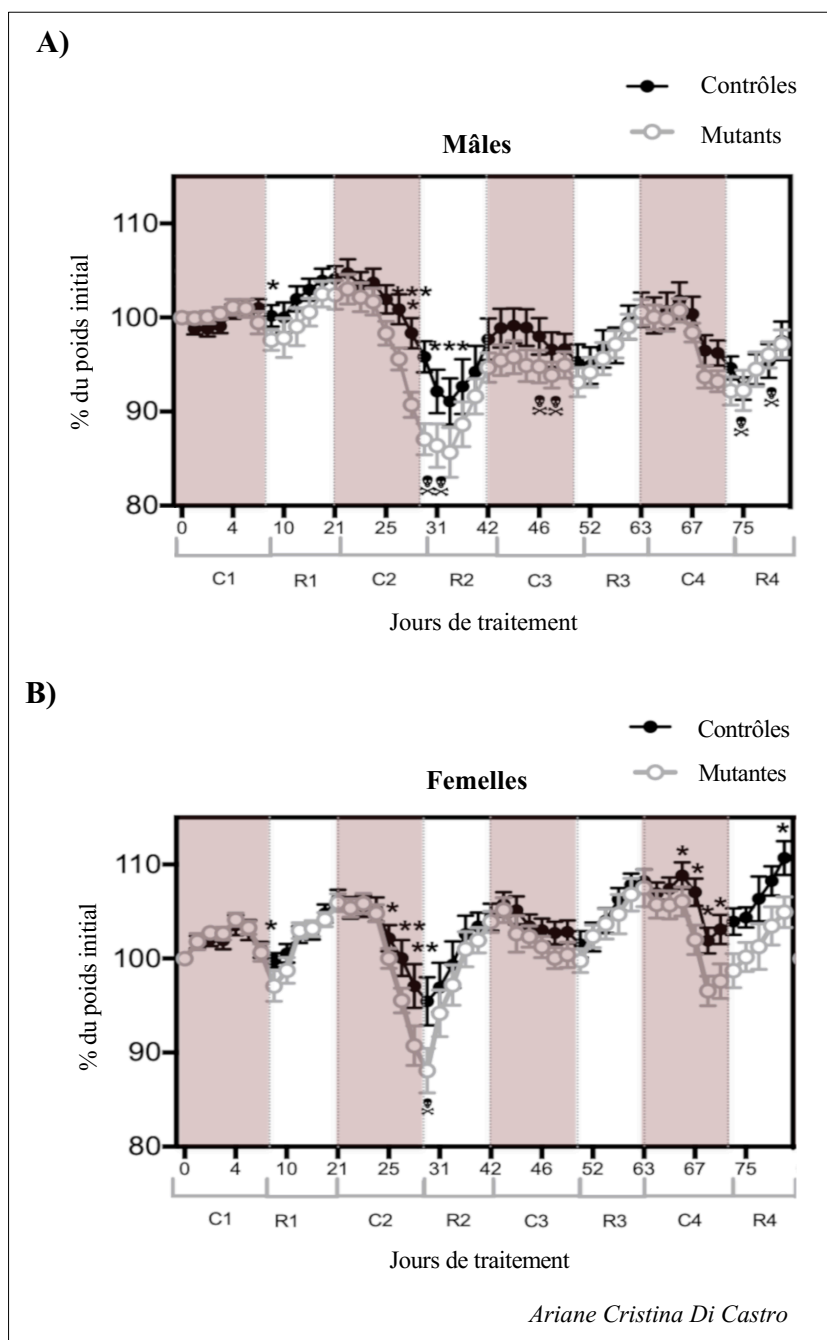


Figure 8 : L'inactivation de *Ncor1* dans les CEIs entraîne une perte de poids plus importante lors d'un traitement chronique au DSS. Courbe représentative de la variation de poids des souris mâles (A) et femelles (B) au cours du traitement chronique au DSS. L'axe des « y » représente le pourcentage de perte de poids des souris par rapport à leur poids initial en début de traitement. L'axe des « x » représente les jours du traitement chronique. Les zones en beige (C1 à C4) représentent les périodes en présence de DSS dans l'eau de boisson et les zones en blanc (R1 à R4) les périodes de récupération où le DSS est retiré de l'eau. Un

total de 25 souris contrôles (12 femelles et 13 mâles, un décès) et 25 souris *Ncor1*^{ΔCEI} (12 femelles, 2 décès et 13 mâles, 5 décès) ont été soumises au traitement chronique. (*; $p < 0,05$) (§; souris euthanasiée)

1.2 Confirmation de la délétion de *Ncor1* dans l'épithélium intestinal

Pour confirmer l'efficacité de la délétion conditionnelle de *Ncor1* dans l'épithélium intestinal, un PCR quantitatif en temps réel a été effectué. Pour ce faire, l'ARN total de côlon proximal des souris a été extrait et le PCR a été effectué à l'aide d'amorces spécifiques pour la reconnaissance d'une séquence des transcrits située entre les exons 10 et 12 du gène de *Ncor1*. L'excision de l'exon 11 via recombinaison homologue cause la production d'un codon STOP prématuré, ce qui rend les souris incapables de produire la protéine NCOR1 au niveau de l'épithélium intestinal. Il est possible d'observer une diminution significative de la détection de la région de l'exon 11 du transcrit dans le côlon des souris *Ncor1*^{ΔCEI} tant au niveau des mâles (19,2 fois réduit; Figure 9A) que des femelles (13,6 fois réduit; Figure 9B).

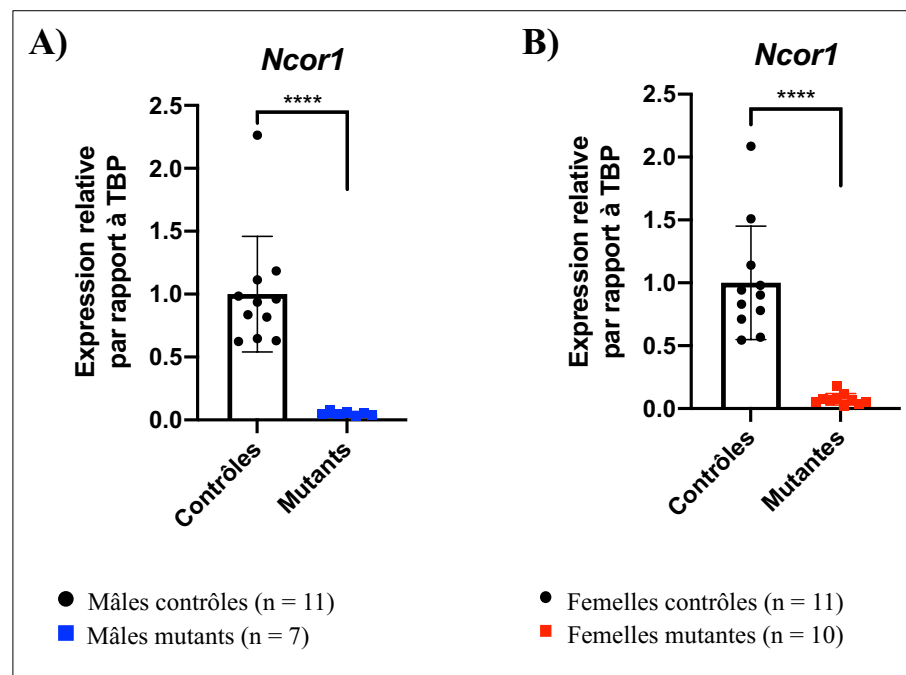


Figure 9 : La délétion de *Ncor1* au niveau de l'épithélium colonique est maintenue au terme de la colite chronique. Analyse qPCR de l'expression des transcrits de la séquence entre les exons 10 et 12 du gène *Ncor1* chez les souris contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI} mâles (A) et

femelles (**B**) au terme du traitement chronique au DSS. Les niveaux d'expression des transcrits de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été mesurés comme référence. (****; $p < 0,0001$)

1.3 Étude histologique de l'épithélium du côlon des souris au terme de la colite chronique

L'histologie de l'épithélium colonique des souris au terme d'un traitement chronique au DSS a ensuite été évaluée. Pour ce faire, plusieurs colorations histologiques ont été réalisées soient; 1) la coloration hématoxyline et éosine (H & E), 2) la coloration au trichrome de Masson et 3) la coloration au bleu alcian.

1.3.1 Coloration à l'hématoxyline et éosine

La coloration H & E a permis de visualiser la présence d'inflammation au niveau des côlons proximaux et distaux des souris contrôles mâles et femelles (Figures 10 et 11). Les souris *Ncor1*^{ΔCEI} mâles ont montré une plus grande sévérité de l'inflammation au niveau du côlon proximal que les contrôles (Figure 10B). Les niveaux de sévérité sont cependant comparables entre les souris contrôles et mutantes au niveau du côlon distal (Figure 10E). De plus, les souris *Ncor1*^{ΔCEI} mâles montrent une légère tendance à une augmentation de l'étendue de l'inflammation au niveau de leur côlon proximal (Figure 10C), ce qui n'est pas observé au niveau du côlon distal (Figure 10F). Il n'y a également pas de différence dans les dommages aux cryptes entre les deux groupes de souris pour les deux segments du côlon (Figure 10D et G).

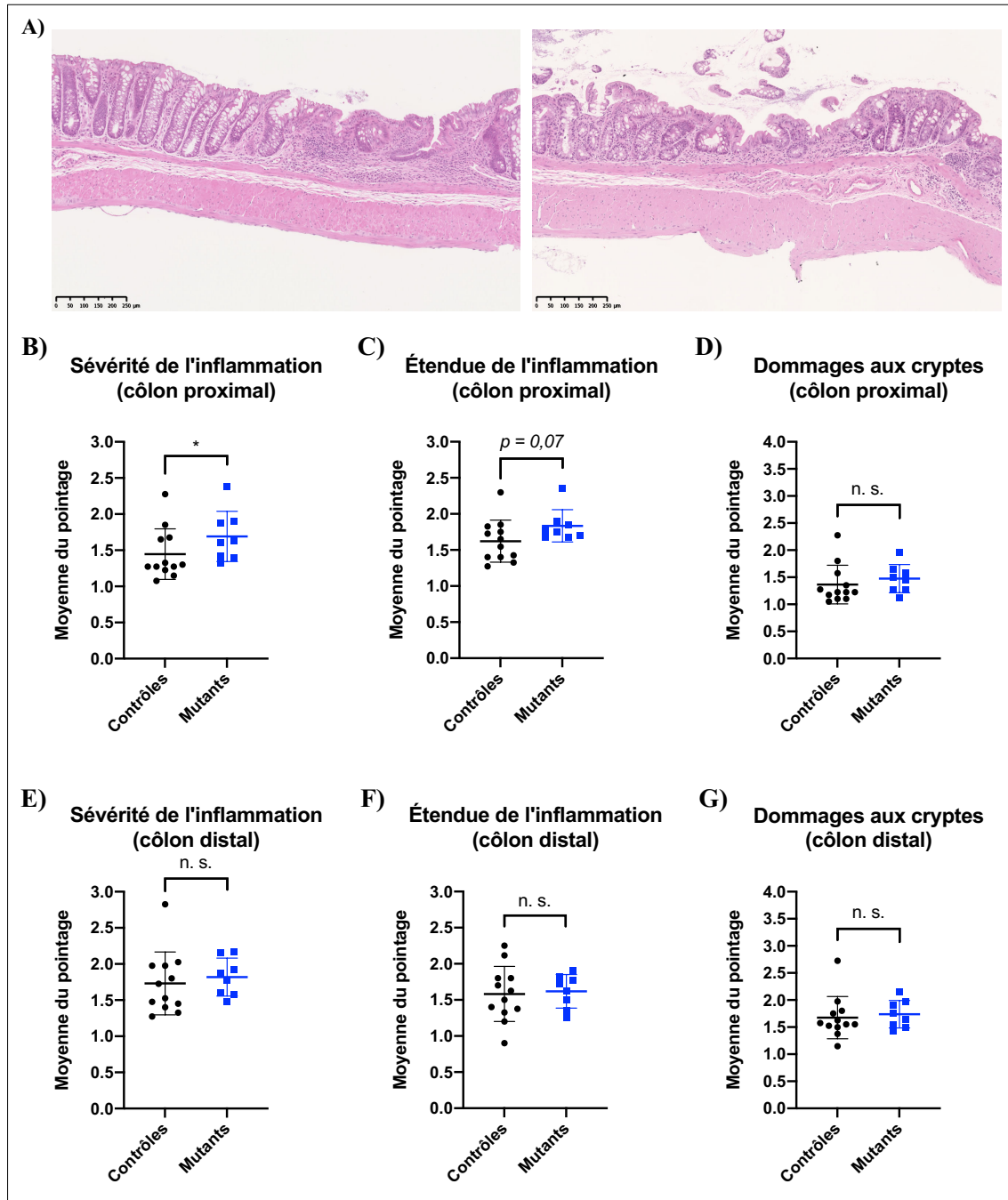


Figure 10 : Les souris *Ncor1*^{ACEI} mâles ne montrent pas plus de dommages à l'épithélium du côlon que les souris contrôles au terme d'un traitement chronique au DSS. (A) Coupe histologique représentative du côlon d'une souris mâle contrôlée (panneau de gauche) et mutante *Ncor1*^{ACEI} (panneau de droite). La longueur totale du côlon de chaque souris a été séparée en portions proximale et distale. (B-D) Moyenne des scores histologiques de 10 champs à un grossissement de 7X du côlon proximal des souris mâles contrôles et

mutantes *Ncor1*^{ΔCEI} au terme d'un traitement chronique au DSS. **(E-G)** Moyenne des scores histologiques de 10 champs à un grossissement de 7X du côlon distal des souris mâles contrôles et mutantes *Ncor1*^{ΔCEI} au terme d'un traitement chronique au DSS. (n. s.; non significatif, *; $p < 0,05$)

De plus, il n'y a pas de différence dans la sévérité de l'inflammation et des dommages aux cryptes entre les souris femelles contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 11B, E, D et G). Cependant, une plus grande étendue de l'inflammation est observée au niveau du côlon distal des souris femelles *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 11F), alors que les niveaux de l'étendue de l'inflammation sont semblables entre les deux groupes de souris femelles dans le côlon proximal (Figure 11C).

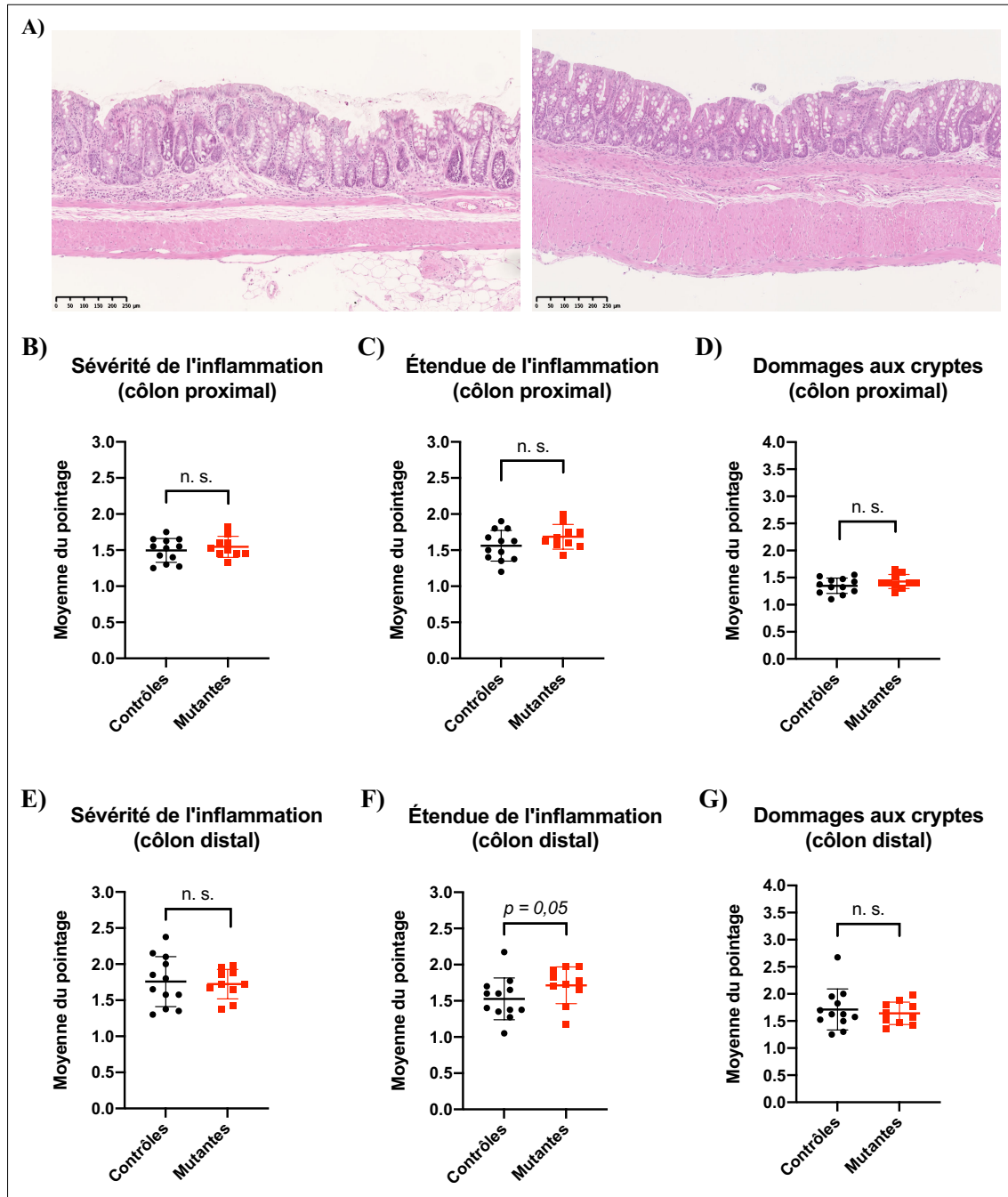


Figure 11 : Les souris *Ncor1*^{ACEI} femelles ne montrent pas plus de dommages à l'épithélium du côlon que les souris contrôles au terme d'un traitement chronique au DSS. (A) Coupe histologique représentative du côlon d'une souris femelle contrôle (panneau de gauche) et mutante *Ncor1*^{ACEI} (panneau de droite). La longueur totale du côlon de chaque souris a été séparée en portions proximale et distale. (B-D) Moyenne des scores histologiques de 10 champs à grossissement 7X du côlon proximal des souris femelles contrôles et

mutantes *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement chronique au DSS. **(E-G)** Moyenne des scores histologiques de 10 champs à grossissement 7X du côlon distal des souris femelles contrôles et mutantes *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement chronique au DSS. (n. s.; non significatif)

1.3.2 Coloration au trichrome de Masson

Les souris *Ncor1*^{ΔCEI} ne montrant globalement pas plus de dommages épithéliaux au terme du traitement chronique, l'apparition de la fibrose au niveau du côlon a ensuite été évaluée à l'aide de la coloration au trichrome de Masson qui permet de qualifier l'intensité de la coloration des fibres de collagène. Il fut possible d'observer que l'intensité de la coloration était très variable le long des sections et entre les souris d'une même cohorte (Figure 12A et B). Pour éviter une évaluation subjective, une technique optimisée par Chen et collaborateurs a permis d'attribuer des valeurs quantitatives à l'intensité de la coloration bleue des fibres de collagène en la discriminant des autres tissus conjonctifs présents dans le champ analysé (Chen *et al.*, 2017). Premièrement, il fut possible d'observer la présence de fibrose au terme du traitement chronique chez les souris contrôles mâles et femelles (Figure 12C et D). Chez les souris mâles, il n'y a pas de différence significative entre le pourcentage de fibrose des souris *Ncor1*^{ΔCEI} lorsque comparées aux contrôles (Figure 12C). Les souris femelles *Ncor1*^{ΔCEI} montrent une tendance non-significative d'une quantité moindre de fibrose que les contrôles (Figure 12D). Il est aussi possible d'observer qu'en général, le pourcentage de fibrose est minime par rapport à l'aire totale de chaque section de tissu (Figure 12C et D).

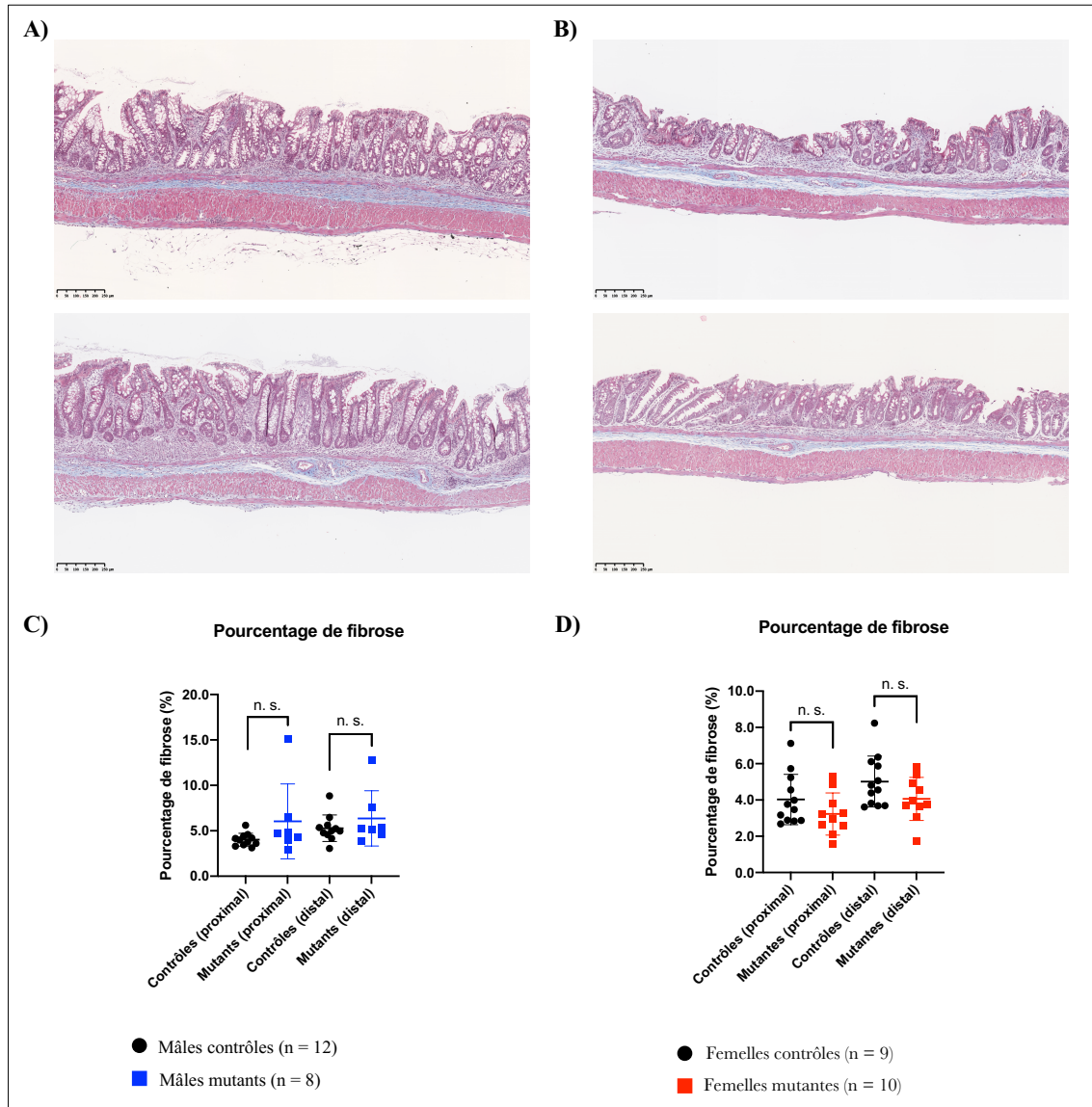


Figure 12 : La perte de NCOR1 au niveau de l'épithélium intestinal n'entraîne pas une formation de fibrose plus importante au terme d'un traitement chronique au DSS. Coloration au trichrome de Masson de coupes histologiques de côlon de souris mâles (A, panneau du haut correspond à un contrôle et celui du bas à un mutant *Ncor1^{ΔCEI}*) ainsi que de souris femelles (B, panneau du haut correspond à un contrôle et celui du bas à un mutant *Ncor1^{ΔCEI}*) au terme du traitement chronique au DSS. La longueur totale du côlon de chaque souris a été divisée en portions proximale et distale. Analyses des moyennes du pourcentage de fibrose de 8 champs à grossissement 7X de côlons proximal et distal des souris mâles (C) et femelles (D) en fonction de l'aire totale du tissu réalisées avec le logiciel FiJi. (n. s.; non significatif)

1.3.3 Quantification des cellules caliciformes

La diminution de mucus étant un effet secondaire des maladies inflammatoires intestinales, la quantité de cellules caliciformes dans le côlon des souris contrôles et *Ncor1*^{ACEI} a ensuite été répertoriée au terme du traitement chronique au DSS. La coloration au bleu alcian a permis de quantifier le nombre de cellules caliciformes dans les cryptes coloniques des souris. Au premier regard, les souris *Ncor1*^{ACEI} mâles et femelles montrent une réduction de la coloration bleue (Figure 13A et B). Ce constat est également confirmé au niveau quantitatif. En effet, une diminution du nombre de cellules caliciformes par cryptes est observée chez les souris *Ncor1*^{ACEI} mâles au terme du traitement chronique lorsque comparées aux contrôles (Figure 13C). Cette diminution est plus importante au niveau du côlon proximal que distal. De plus, les souris *Ncor1*^{ACEI} femelles montrent aussi une diminution significative de la quantité de cellules caliciformes par crypte. Tout comme les mâles, cette diminution est plus importante au niveau du côlon proximal (Figure 13D). De plus, la perte de *Ncor1* entraîne une tendance à la diminution de l'expression des transcrits du gène *Muc2* chez les souris femelles (Figure 13E et F). Cette diminution est significative chez les mâles (Figure 13E).

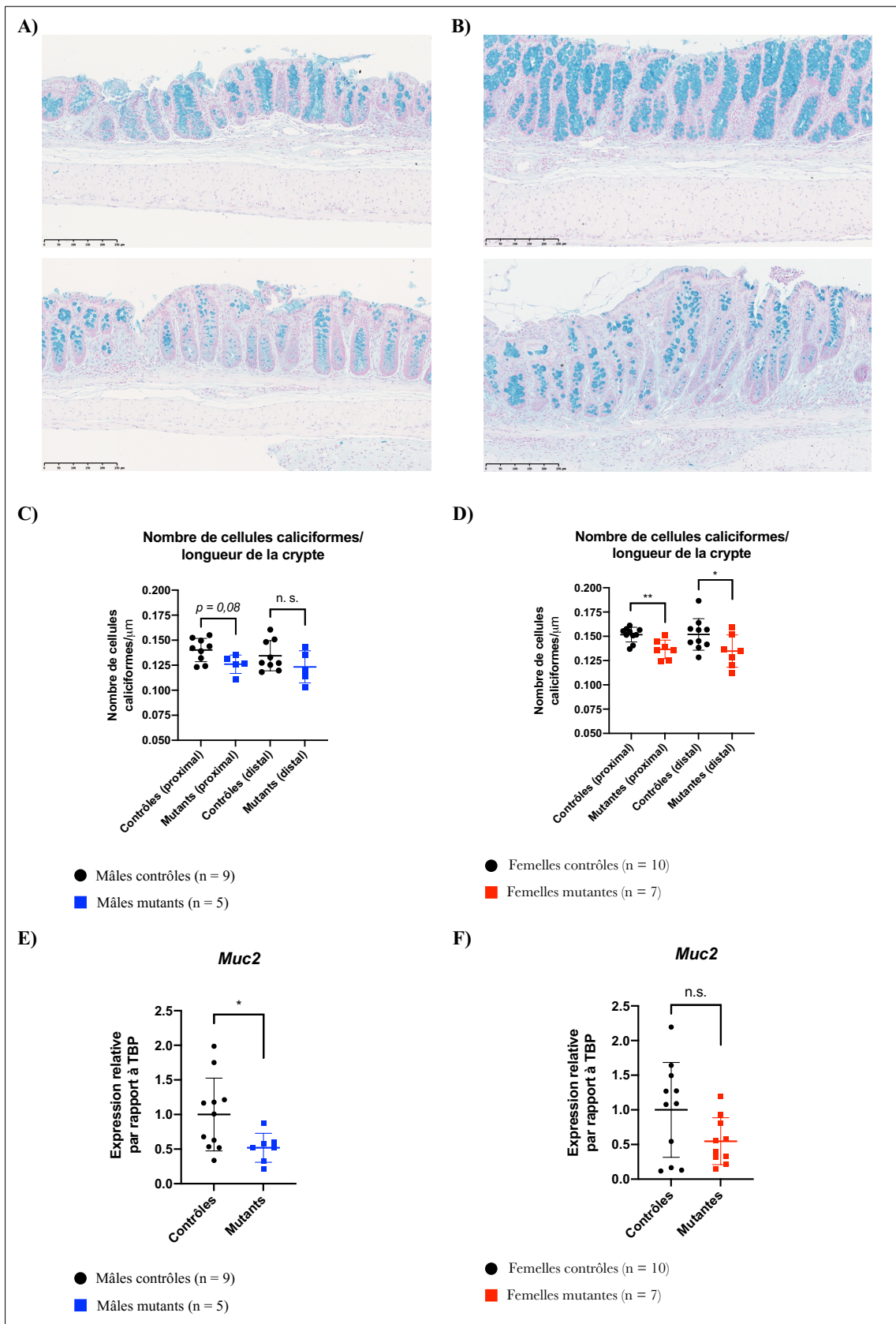


Figure 13 : NCOR1 supporte la production des cellules caliciformes en condition de colite chronique. Coloration au bleu alcian de coupes histologiques de côlon de souris mâles (A, panneau du haut correspond à un contrôle et celui du bas à un mutant *Ncor1*^{ΔCEI}) ainsi que de souris femelles (B, panneau du haut correspond à un contrôle et celui du bas à un mutant *Ncor1*^{ΔCEI}) au terme du traitement chronique au DSS. Le nombre de cellules caliciformes par μm de crypte chez les souris mâles (C) et femelles (D) est représenté par groupes de souris. Analyse qPCR de l'expression des transcrits du gène *Muc2* chez les souris mâles (E) et femelles (F) au terme du traitement chronique au DSS. Les niveaux d'expression du transcrit de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été mesurés comme référence. (n. s.; non significatif, *; $p < 0,005$, **; $p < 0,01$)

1.4 Expression et activité de l'indoleamine-2,3-dioxygénase

En plus de l'état histologique du côlon des souris au terme du traitement chronique, l'impact de la perte de *Ncor1* sur l'expression des gènes a été étudiée. Pour ce faire, de précédents résultats obtenus au sein du laboratoire ont été utilisés. En effet, des études de micro-puce effectuées par une ancienne étudiante au doctorat avaient permis de prédire la variation de l'expression de plusieurs gènes dans l'épithélium intestinal de souris *Ncor1*^{ΔCEI} âgées de 2 et 10 mois (St-Jean S, <http://hdl.handle.net/11143/10620>). Parmi ceux-ci, *Ido1* figurait comme étant celui montrant la plus grande induction d'expression chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI}. Puisque le gène *IDO1* est impliqué dans les phases actives de la colite chez l'humain (Wolf *et al.*, 2004), (Zhou *et al.*, 2012), nous avons donc mesuré l'impact de la perte de *Ncor1* dans l'épithélium intestinal sur l'expression de ce gène au terme d'un traitement chronique au DSS. Des ARNs totaux de côlon chez les souris malades ont été extraits et l'expression des transcrits de *Ido1* fut mesurée par qPCR. Suite au traitement chronique au DSS, il est possible d'observer une tendance à l'augmentation de l'expression des transcrits de *Ido1* chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} mâles (Figure 14A). À noter que cette augmentation de l'expression des transcrits du gène est significative chez les femelles. (Figure 14B).

Afin de mesurer si l'augmentation des transcrits avait un impact sur l'activité enzymatique de IDO1, des tests ELISA mesurant la quantité de Trp et kyn circulants ont été

réalisés sur les plasmas des souris malades. L'activité de l'enzyme fut ensuite déterminée en calculant le ratio de la quantité de kyn circulante (produit de la réaction enzymatique de IDO1) divisée par la quantité de Trp (substrat de IDO1) détectées dans le plasma. Cette analyse n'a révélé aucune modification significative entre les ratios KYN/TRP des souris contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI} pour les deux sexes (Figure 14C et D).

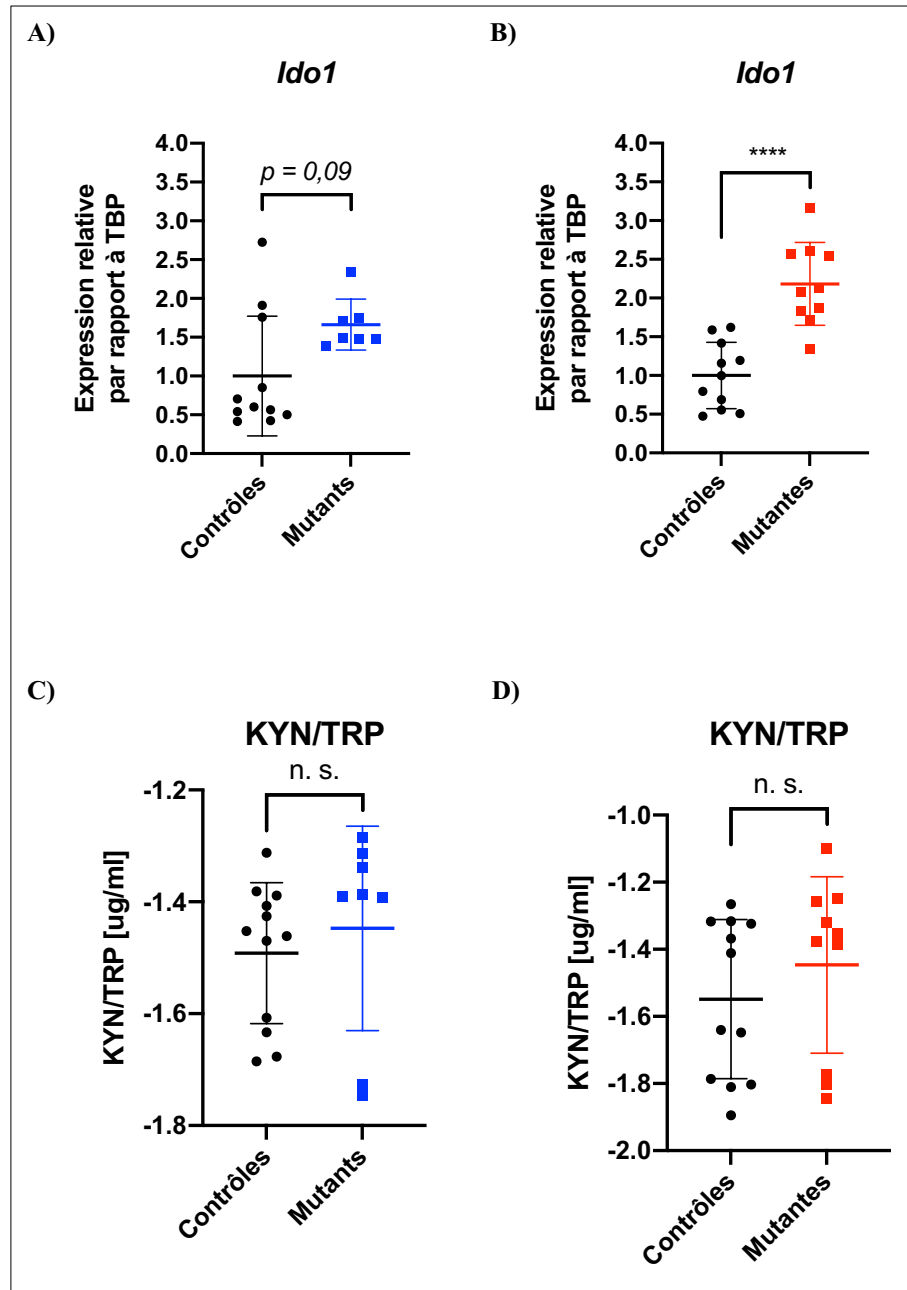


Figure 14 : Les souris *Ncor1*^{ΔCEI} montrent une augmentation de l'expression colonique des transcrits de *Ido1* sans impact sur l'activité de l'enzyme au point de vue systémique.

Analyse qPCR de l'expression des transcrits du gène *Ido1* chez les souris mâles (A) et femelles (B) au terme d'un traitement chronique au DSS. Les niveaux d'expression du transcrit de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été utilisés comme référence. Logarithme en base 10 du ratio de la quantité de kyn (μg/ml) divisée par celle du Trp (μg/ml) dans le plasma des souris mâles (C) et femelles (D) au terme d'un traitement chronique de colite expérimentale. (n. s.; non significatif, ****; $p < 0,0001$)

2. Fonctions de NCOR1 dans le contexte d'un épithélium intestinal isolé en culture ex vivo

2.1 Établissement et caractérisation des lignées de colonoïdes

Afin de mesurer l'impact de la perte de *Ncor1* de façon intrinsèque à l'épithélium colonique et ce, sans compensation de l'environnement cellulaire complexe du tube digestif, des lignées de colonoïdes ont été établies. Puisque NCOR1 a déjà été rapporté comme étant essentiel pour la prolifération épithéliale intestinale en culture (Doyon *et al.*, 2009), il demeurerait possible que l'établissement de ces lignées soient problématiques. Bien qu'il ait été possible d'établir une lignée de colonoïdes à partir du côlon d'une souris *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 15A), une diminution de la taille des colonoïdes et un changement de morphologie fut observée par rapport à une lignée de colonoïdes établie à partir d'une souris contrôle (Figure 15B). Cette différence de taille s'amplifie de plus en fonction du temps. En effet, les colonoïdes mutants ont un diamètre majoritairement plus petit que les contrôles au 7^e jour après un passage (Figure 15B). En effet, plus de la moitié des colonoïdes provenant d'une souris *Ncor1*^{ΔCEI} montrent un diamètre se situant entre 50 μm et 100 μm, contrairement aux contrôles où une plus grande quantité de colonoïdes montrent des diamètres allant de 200 μm à 350 μm (Figure 15B). Des qPCR visant la détection de l'exon 11 du gène *Ncor1* ont confirmé un maintien efficace en culture de la délétion de *Ncor1* observée chez les colonoïdes provenant des souris *Ncor1*^{ΔCEI} (Figure 15C et D). De plus, une diminution de de

l'expression de la protéine NCOR1 est observée dans les colonoïdes mutants lorsque comparés aux contrôles (Figure 15E).

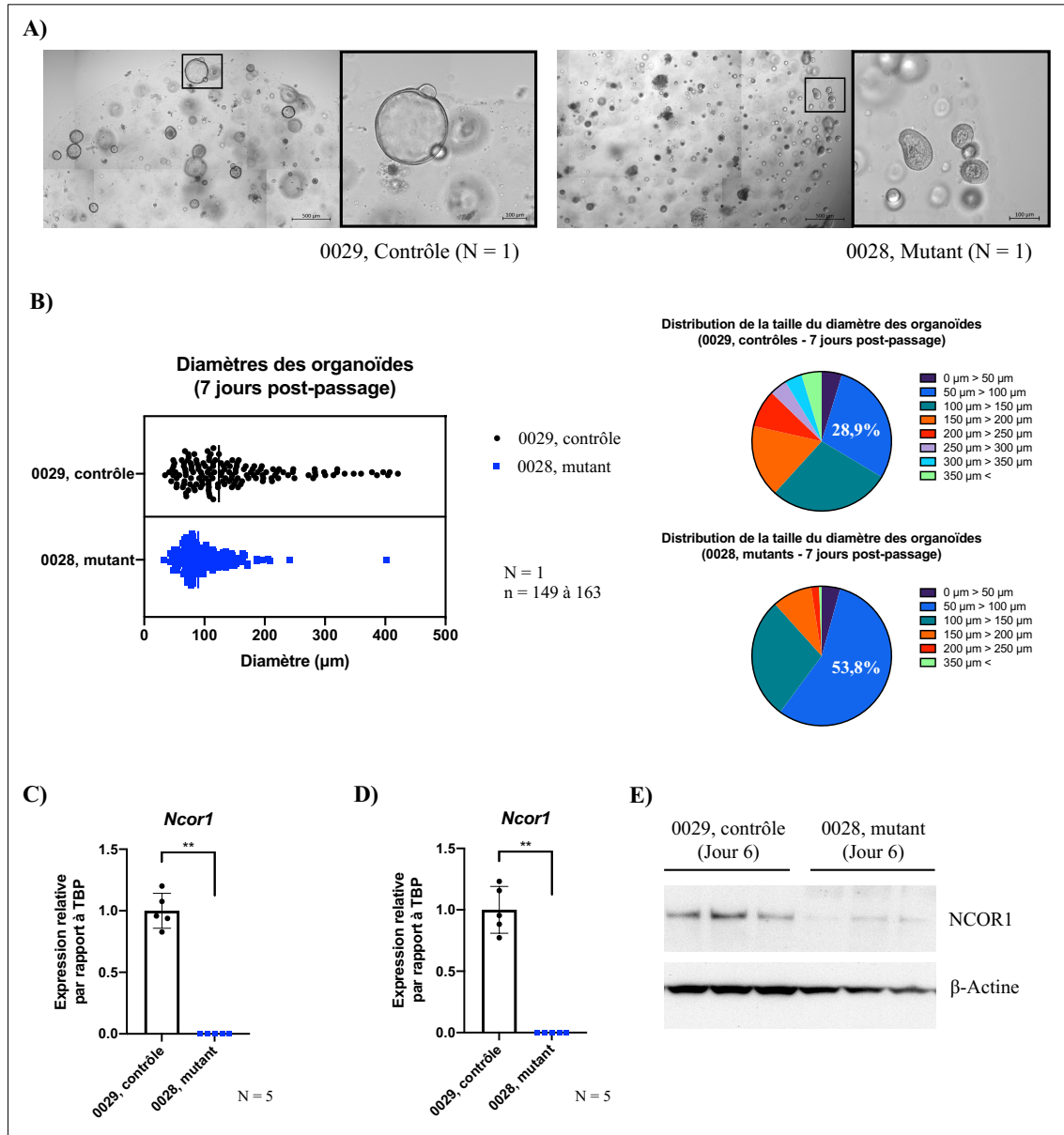


Figure 15 : La perte de *Ncor1* est associée à une diminution de la croissance des colonoïdes en culture *ex vivo*. (A) Images représentatives des colonoïdes prises en contraste de phase à 6 jours de croissance post-passage à un grossissement 5X. (B) Mesure du diamètre des colonoïdes 7 jours après passage. Distribution de la taille du diamètre des colonoïdes contrôles (panneau du haut à droite) et mutants (panneau du bas à droite) 7 jours après un passage. (C-D) Analyse qPCR de l'expression des transcrits de la séquence comprise entre

les exons 10 et 12 du gène *Ncor1* chez des colonoïdes de 3 jours (C) et 6 jours (D) post-passage. **E)** Immunobuvardage réalisé à partir d'extraits totaux des colonoïdes contrôles (0029) et *Ncor1*^{ΔCEI} (0028) à 6 jours de croissance post-passage. Un anticorps anti-NCOR1 a été utilisé pour la détection de la protéine et un second anticorps dirigé contre la β-Actine a été utilisé pour mesurer les niveaux relatifs de protéines déposées sur chaque gel. (n. s.; non significatif, **; $p < 0,01$)

2.2 Caractérisation génétique des lignées de colonoïdes

Puisque des variations dans l'expression des gènes *Muc2* et *Ido1* ont été observées dans le côlon des souris *Ncor1*^{ΔCEI} à la suite du traitement chronique de DSS, nous avons voulu vérifier si ces modifications étaient intrinsèques aux cellules épithéliales coloniques isolées de leur environnement. Tout comme chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} soumises à la colite chronique, une diminution de plus de 65% ($P < 0,05$) du gène *Muc2* après 6 jours suite au passage est observée chez les colonoïdes déplétés pour *Ncor1* (Figure 16A). Dans le cas de *Ido1*, les transcrits semblent diminués chez les colonoïdes provenant des souris *Ncor1*^{ΔCEI} au 3^e jours après passage (Figure 16B). Cette même expression est également très variable au sein de chaque échantillon (contrôles et mutants) (Figure 16B). Au 6^e jour, les niveaux d'expression des transcrits entre les deux lignées semblent comparables (Figure 16B). De plus, dans les conditions expérimentales utilisées, il ne semble pas possible de détecter un niveau d'expression de la protéine (Figure 16C). De façon intrigante, les niveaux détectés de kyn, normalement produite par l'activité enzymatique de IDO1, augmentent de façon significative dans le milieu de culture des colonoïdes après 6 jours de croissance (Figure 16D).

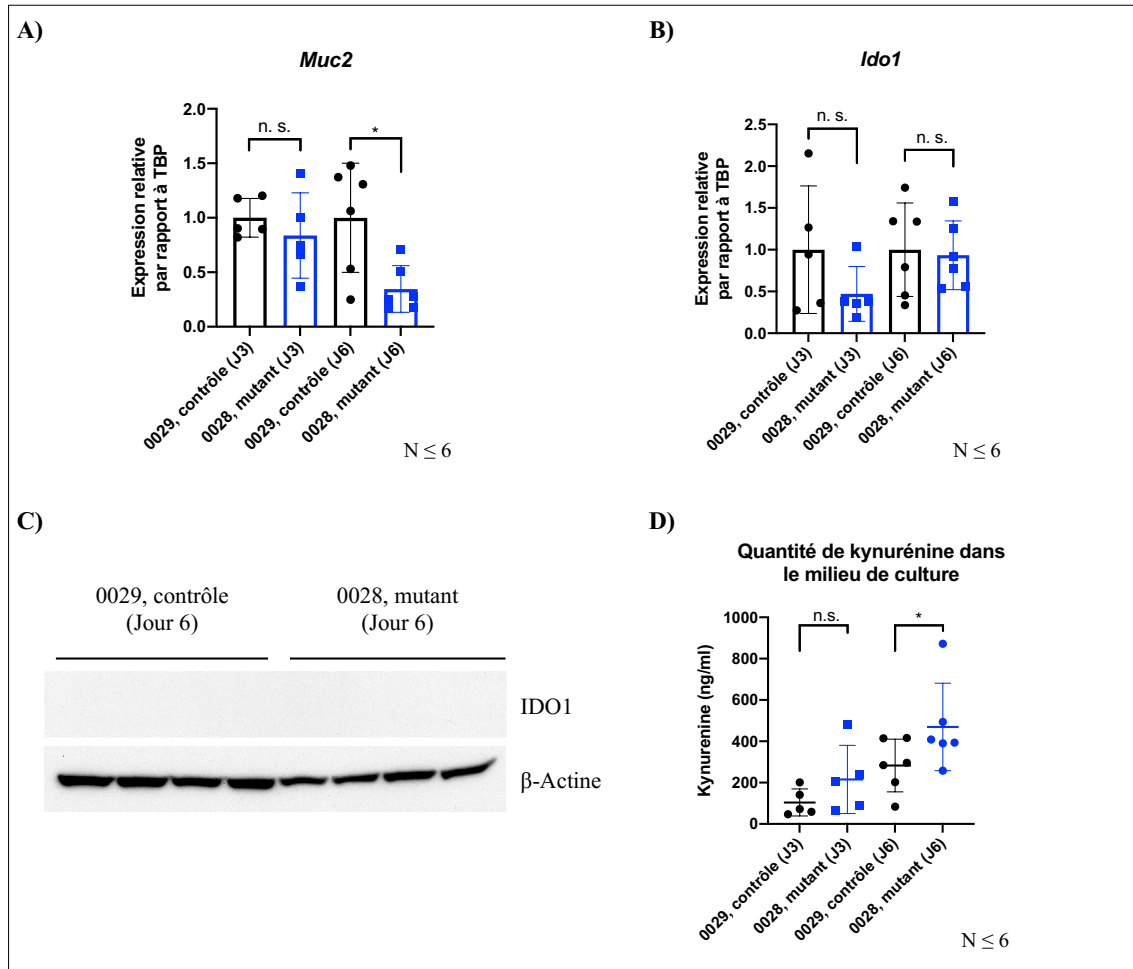


Figure 16 : L'expression de *Idol* en culture *ex vivo* n'est pas différente entre les colonoïdes contrôles et ceux invalidés pour *Ncor1*. **A)** Analyses qPCR des transcrits des gènes *Muc2* (A) et *Idol1* (B) chez des colonoïdes à 3 et 6 jours post-passage. Les niveaux d'expression du transcrit de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été utilisés comme référence. **C)** Immunobuvardage réalisé à partir d'extraits totaux de colonoïdes isolés d'une souris contrôle (0029) et d'une souris *Ncor1*^{ACEI} (0028) à 6 jours de croissance post-passage. Un anticorps anti-IDO1 a été utilisé pour la détection de la protéine et un second anticorps dirigé contre la β -Actine a été utilisé pour mesurer les niveaux relatifs de protéines déposées sur chaque gel. **D)** Quantité de kyn (ng/ml) dans le milieu de culture des colonoïdes après 3 et 6 jours de croissance post-passage. Une trousse ELISA commerciale anti-kynurénine a été utilisée selon le protocole fournis. Des analyses statistiques T-student en paire ont été réalisés. (n. s.; non significatif, *, $p < 0,02$)

Chapitre 4 : Discussion

Le corépresseur NCOR1 est impliqué dans la répression de plusieurs gènes cibles des voies impliquant l'action de l'acide rétinoïque et de l'hormone thyroïdienne. De façon plus précise, le corépresseur interagit avec les récepteurs nucléaires de type RXR, PPAR et LXR, ainsi qu'avec des facteurs de transcription tels que NF- κ B et AP-1. NCOR1 fait partie d'un complexe de répression composé d'une douzaine de partenaires dont les principaux sont TBL1/TBLR1, GPS2 et HDAC3 (Oberoi *et al.*, 2011). C'est également via l'interaction avec cette histone déacétylase que le complexe acquiert son activité inhibitrice de la transcription.

Lors de précédentes expériences réalisées dans le laboratoire, il a été possible d'observer que les souris *Ncor1* ^{Δ CEI} démontraient une perte de poids et un indice de sévérité de la maladie plus importants que les contrôles lors de l'induction d'un stress inflammatoire aigu (Loiselle, A., Mémoire, <http://hdl.handle.net/11143/11521>). Ces résultats sont également en accord avec une étude récemment publiée où une équipe de recherche a également soumis les souris *Ncor1* ^{Δ CEI} à un traitement aigu au DSS (Mennillo *et al.*, 2020). Cet ensemble de résultats suggérerait donc que NCOR1 agirait comme protecteur de l'épithélium intestinal en cas de stress inflammatoire aigu. De plus, des expériences de micro-puces ont également permis de prédire une variation dans l'expression de plusieurs transcrits de gènes à la suite de la perte de *Ncor1* au niveau du colon de souris *Ncor1* ^{Δ CEI} âgées de 2 et 10 mois (St-Jean S, <http://hdl.handle.net/11143/10620>). De tous les gènes, celui prédit pour être modulé avec la plus grande augmentation fut le gène *Ido1*. IDO1 est majoritairement connue pour son rôle dans le métabolisme du Trp, où elle permet la dégradation de l'acide aminé pour produire des métabolites de kyn. Il s'agit également d'une enzyme grandement impliquée dans la sévérité des MIIs (Zhou *et al.*, 2012). IDO1, dans un contexte de MIIs, aurait plutôt des caractéristiques pro-inflammatoires (Cherayil, 2009). Cela entraînerait donc une réaction du système immunitaire inappropriée, symptôme des MIIs chez les patients.

Ce sont ces résultats ainsi que la littérature qui nous ont mené à poser l'hypothèse que NCOR1, via son lien possible avec le métabolisme du Trp, serait impliqué dans l'augmentation de la sévérité d'une colite chronique. Dans le cadre de notre projet, nous avons généré un modèle de colite chronique expérimentale chimique afin d'étudier les impacts de la perte du corépresseur, mais cette fois, au terme d'un traitement chronique au DSS. De plus, afin d'éliminer les compensations de l'organisme face à la perte épithéliale de *Ncor1*, nous avons également généré un modèle de colonoïdes nous permettant d'étudier le rôle du corépresseur au sein d'un épithélium isolé des autres composantes tissulaires en culture *ex vivo*.

1. Rôle de NCOR1 dans la réponse inflammatoire en condition chronique

1.1 La perte de *Ncor1* rend les souris plus susceptibles au traitement DSS en condition chronique

Le premier objectif de notre étude consistait à étudier les impacts de la perte épithéliale de *Ncor1* chez des souris en condition inflammatoire chronique. Pour ce faire, un modèle de colite chronique a été généré via un traitement de plusieurs cycles de DSS-récupération sur une période totale de 90 jours. La prise de mesure de poids quotidienne des animaux a permis de tracer un profil de variation de poids des souris correspondant à une diminution lors de l'introduction de DSS et à une reprise de poids dans les périodes de retrait du détergent. Cela permet d'observer que les souris *Ncor1*^{ΔCEI}, et davantage les mâles, ont une perte de poids plus importante que les contrôles et ce, de façon plus prononcée lors de la deuxième introduction au DSS. Ce phénomène peut être expliqué par une augmentation du pourcentage de DSS durant ce cycle afin d'éliminer les risques de résistance au traitement, mais également parce que cette réintroduction induit une plus grande réponse inflammatoire affectant également les capacités protectrices de la barrière intestinale. Cette réaction plus prononcée est souvent présente lors d'une rechute chez un patient atteint de colite ulcéreuse (Langholz *et al.*, 1994).

En plus de la perte de poids plus prononcée chez les animaux *Ncor1*^{ΔCEI}, une quantité plus importante de souris mutantes ont dû être sacrifiées au cours du traitement, car leur

poids avait chuté au-delà de la limite déterminée de 20%. Ce nombre de sacrifices a également été plus important chez les souris mâles *Ncor1*^{ΔCEI} que chez les femelles de la même lignée. Ces résultats obtenus suggèrent aussi que la sévérité de la maladie serait dépendante du sexe de l'animal. En effet, la littérature rapporte que les hommes seraient plus susceptibles de développer la colite ulcéreuse que les femmes (Goodman *et al.*, 2020), (Hammer *et al.*, 2016), (Gearry *et al.*, 2006), (Bernstein *et al.*, 2006), (Molinié *et al.*, 2004). Cependant, cela ne signifie pas que les femmes ne développent pas la maladie. La maladie chez les femmes serait plutôt moins sévère que les hommes (Goodman *et al.*, 2020). Les femmes seraient également plus susceptibles de contracter la maladie de Crohn plutôt que la colite ulcéreuse (Molinié *et al.*, 2004). Cette susceptibilité diminuée à contracter la maladie chez les femmes pourrait venir de l'aspect protecteur des récepteurs à l'œstrogène.

Les récepteurs à œstrogène (ER α et β) sont des récepteurs nucléaires capables d'être activés lors de la liaison avec leur ligand. De façon générale, le récepteur le plus exprimé dans le côlon est ER β . Dans la voie classique, lorsque le 17 β -estradiol (E2) lie les domaines de liaison au ligand du récepteur, cela entraîne un changement de conformation, dissociation des protéines de répression et formation d'homo- et hétérodimères. Ces dimères transloquent alors au noyau et, via interaction directe à l'ADN en s'associant à des éléments de réponse spécifique à l'œstrogène ou indirecte en s'associant à d'autres facteurs de transcription, activent l'expression de leurs gènes cibles (Jia *et al.*, 2015). L'E2 joue aussi un rôle au niveau de l'intégrité de la barrière protectrice intestinale. En effet, Langen et collaborateurs ont montré que l'activation de ce récepteur, via des agonistes synthétiques, diminue la perméabilité intestinale chez les souris invalidées pour l'interleukine 10 (Langen *et al.*, 2011). Ces souris sont caractérisées par le développement spontané de symptômes correspondant à une colite et une augmentation de leur perméabilité intestinale (Macdonald, 1994). Dans le même ordre d'idées, une autre étude a montré que la délétion des récepteurs à l'œstrogène augmentait la sévérité des symptômes de la colite lorsque les souris étaient soumises à un traitement AOM-DSS (Saleiro *et al.*, 2012). Ces observations pourraient expliquer une mortalité diminuée chez les femelles mutantes lors du traitement chronique au DSS. Une expression plus grande de récepteur à l'œstrogène chez les femelles pourrait faire en sorte qu'elles soient moins affectées par la présence de DSS, car leur barrière protectrice

pourrait avoir une meilleure intégrité que celle des mâles. Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent donc que, tout comme en condition aigüe (Mennillo *et al.*, 2020), la perte épithéliale de *Ncor1* rend les souris plus susceptibles au stress inflammatoire en condition de colite expérimentale chronique. De plus, les profils de perte de poids et la survie atténuée chez les mâles suggèrent également que la susceptibilité au DSS est sexe-dépendante.

1.2 Confirmation de la délétion de *Ncor1* dans l'épithélium intestinal

L'introduction des séquences LoxP de part et d'autre de l'exon11 du gène de *Ncor1* entraîne une incapacité à produire la protéine lorsqu'il y a recombinaison homologue par l'action de la recombinaise Cre (Yamamoto *et al.*, 2011). Les croisements de souris effectués ont permis d'obtenir des souris transgéniques où l'expression de la recombinaise Cre permet la délétion de l'exon11 du gène *Ncor1*, et ce, seulement dans les CEIs. En effet, la recombinaise Cre est exprimée sous le contrôle du promoteur de la Villine, protéine seulement exprimée dans les bordures en brosse des CEIs. La présence négligeable de la séquence située entre les exons 10 et 12 du gène de *Ncor1* chez les animaux mutants en condition de stress inflammatoire chronique confirme la grande efficacité de délétion du système mais indique aussi que la contribution des autres composantes cellulaires du côlon pour l'expression de *Ncor1* est relativement négligeable.

1.3 La perte de *Ncor1* n'entraîne pas plus de dommages à l'épithélium intestinal au terme d'une colite expérimentale chronique

De façon générale, la littérature rapporte que les récepteurs nucléaires auraient des rôles protecteurs lors d'induction de stress inflammatoires aigus (Adachi *et al.*, 2006), (Jakobsson *et al.*, 2014), (Shah *et al.*, 2007) (Vavassori *et al.*, 2009). L'étude réalisée par Adachi et collaborateurs montre que la perte du récepteur nucléaire PPAR- γ dans les CEIs entraîne une augmentation de la sévérité des dommages épithéliaux lors de l'induction d'un traitement aigu au DSS et qu'une administration préventive d'un agoniste du récepteur atténue les dommages épithéliaux lors de ce même traitement (Adachi *et al.*, 2006). Une autre étude a montré que l'activation des récepteurs de type FXRs, formant des hétérodimères avec les RXRs de façon dépendante de ligands, rendait les souris moins susceptibles aux agents inflammatoires en conditions aiguës et chroniques. Tout comme dans

l'étude de Adachi et collaborateurs, un traitement préventif avec du « 6-ethyl-CDCA », agoniste des récepteurs, diminuait les dommages épithéliaux (Vavassori *et al.*, 2009). De façon complémentaire aux résultats *in vivo*, les auteurs ont montré que l'invalidation de *NCOR1* dans la lignée monocyttaire humaine THP-1 la rendait insensible au traitement « 6-ethyl-CDCA », ce qui se traduisait par une augmentation de la réponse cellulaire aux LPS via l'accumulation de l'IL-1 β . Ces résultats suggéraient qu'une stabilisation de l'interaction entre NCOR1 et les FXRs, causée par une sumoylation du corépresseur, serait nécessaire à la transrépression de l'IL-1 β (Vavassori *et al.*, 2009). L'interaction entre NCOR1 et les FXRs serait donc nécessaire pour l'atténuation voire l'inhibition de la réponse inflammatoire.

Ces informations indiquent que l'activation des récepteurs nucléaires favoriserait la protection de l'épithélium intestinal en conditions inflammatoires. Cela suggérerait également que l'invalidation de *Ncor1*, normalement régulateur négatif de ces récepteurs, entraînerait une activation soutenue des récepteurs nucléaires dans les CEIs, ce qui pourrait rendre les souris moins susceptibles en conditions inflammatoires chroniques. Nos résultats sont en contradiction avec cette situation, ce qui suggère que le développement des symptômes associés à la colite impliquerait un ou des mécanismes différents. Ces mécanismes pourraient impliquer les capacités de transrépression de NCOR1, comme ce qui est évoqué dans l'étude réalisée par Vavassori et collaborateurs (Vavassori *et al.*, 2009). Cela implique également que le corépresseur serait nécessaire afin de maintenir une inhibition stable des facteurs qui normalement activent l'expression des cytokines lors de la réponse inflammatoire. Une étude récemment publiée par Oh et collaborateurs suggère un mécanisme de transrépression entre les récepteurs de type « *Retinoic acid-related orphan receptor α* (ROR α) » et l'activation de NF- κ B (Oh *et al.*, 2019). Dans cette étude, les auteurs ont observé que les souris invalidées pour ROR α (ROR $\alpha^{\Delta CEI}$) montraient une plus grande sévérité des dommages à l'épithélium intestinal et une plus grande activation de NF- κ B lors de l'induction d'une colite expérimentale. Suite à des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP), les auteurs ont montré que ROR α n'était pas directement recruté au promoteur *IL1B*, un gène cible de NF- κ B. Complémentaire à cette étude, le même groupe a montré que l'interaction entre ROR α et HDAC3 était capable de compétitionner PPAR- γ sur ses gènes cibles (Kim *et al.*, 2017). L'ensemble de ces observations suggère que

l'atténuation de l'activité du facteur de transcription NF- κ B proviendrait d'un « transmécanisme » impliquant le recrutement de complexes de répression contenant HDAC3 (Oh *et al.*, 2019).

Sachant que HDAC3 nécessite NCOR1 pour son activité enzymatique (You *et al.*, 2013) et qu'elle est nécessaire à l'atténuation de l'activité de NF- κ B via son recrutement par les récepteurs ROR α , il est possible que l'absence de NCOR1 entraîne une perte du processus de transrépression des gènes. Cela pourrait résulter en une expression continue des gènes pro-inflammatoires associés à l'activation de NF- κ B, contribuant aux dommages épithéliaux en contexte d'inflammation chronique. En effet, tout comme dans le modèle de souris invalidées pour les récepteurs ROR α , le modèle de notre étude fait intervenir la perte d'une composante importante pour le processus de l'atténuation de l'activité de NF- κ B. Ceci pourrait expliquer en partie la mortalité accrue pour certains individus du modèle *Ncor1*^{ΔCEI} en condition d'inflammation chronique.

De façon générale, nous n'avons pas observé de différence significative dans l'indice de sévérité histologique des souris mutantes et contrôles au terme du traitement chronique au DSS. De façon plus précise, les souris contrôles des deux sexes montrent des signes d'inflammation au terme du traitement, ce qui confirme qu'il y a bel et bien eu l'établissement de la maladie chez ces souris. Toutefois, les indices de sévérité de la maladie ne sont pas plus élevés chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI}, sauf au point de vue de l'étendue de l'inflammation. Ce dernier critère a effectivement tendance à être plus élevé chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement. Cependant, plusieurs souris mutantes n'ont pas survécu jusqu'au terme du traitement chronique. Il est probable que ces souris auraient montré une sévérité accrue au cours de la colite expérimentale.

1.4 La manifestation de la fibrose n'est pas plus prononcée au terme de la colite chronique chez les souris déficientes en *Ncor1* au niveau de l'épithélium intestinal

Puisqu'il n'y avait pas de différence significative dans les dommages épithéliaux entre les souris contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement chronique, nous avons étudié

l'apparition de la fibrose chez les souris malades. Le phénomène de fibrose est expliqué par une mauvaise régénération de l'épithélium causée par une demande constante de réparation qui excède les capacités de l'hôte. Dans un contexte inflammatoire, les macrophages et les neutrophiles induisent des dommages tissulaires localement via la sécrétion d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que des enzymes capables de dégrader les tissus. Ce phénomène est également accompagné de libération de cytokines pro-inflammatoires, de chimiokines et d'activateurs des protéines attachées à la matrice extracellulaire. Lorsque les dommages tissulaires sont sévères, comme dans un cas d'inflammation chronique, il y a alors migration des myofibroblastes au site endommagé et formation d'une nouvelle matrice extracellulaire riche en collagène (Gordon *et al.*, 2014), (Rieder *et al.*, 2007). La présence de fibrose est observée chez les souris contrôles au terme de l'établissement de la colite expérimentale chronique. Toutefois, l'analyse visuelle des fibres de collagène colorées en bleu dans la sous-muqueuse montre un niveau comparable de fibrose parmi les souris contrôles et mutantes. Des analyses quantitatives confirment que l'apparition de la fibrose est comparable entre les deux lignées mâles alors que la souris *Ncor1*^{ΔCEI} femelle semble suggérer une tendance de fibrose moins importante que chez les contrôles.

Une étude réalisée par Specia et collaborateurs rapporte que l'activation de PPAR- γ via administration orale de GED, agoniste synthétique du récepteur, diminuerait la fibrose chez les souris soumises au DSS (Specia *et al.*, 2016). Dans cette étude, le traitement avec l'agoniste entraînait une diminution de l'expression des gènes marqueurs de la fibrose; l'« *α -smooth muscle actin* (α -SMA) » et les collagènes 1 et 2. Le TGF- β étant reconnu pour ses propriétés pro-fibrotiques (Verrecchia et Mauviel, 2002) était également grandement diminué lors de l'activation de PPAR- γ . Un des mécanismes entraînant cette atténuation de formation de fibrose pourrait impliquer une diminution de l'activation de la voie TGF- β /Smad3 par un processus de compétition. En effet, une étude réalisée par Ghosh et collaborateurs a montré qu'il existerait une interaction entre PPAR- γ et le coactivateur de Smad3, p300 (Ghosh *et al.*, 2009). PPAR- γ (Gelman *et al.*, 1999) et Smad3 (Ghosh *et al.*, 2001) nécessitant tous deux une interaction avec p300 pour être actifs, la suractivation de l'un se faisant donc au dépend de l'autre. En d'autres mots, une augmentation de l'activation de PPAR- γ réduirait les quantités disponibles de p300 (Ghosh *et al.*, 2009), ce qui entraînerait

une diminution de l'activation de Smad3 et, ultimement, diminuerait la production de collagène, protéine principale de la formation de la fibrose. Sachant que l'activation de PPAR- γ pourrait être soutenue par la perte de *Ncor1* au niveau des CEIs, il se pourrait que l'apparition moins importante de fibrose chez les souris *Ncor1* ^{Δ CEI} femelles soit due à cette activation.

Une analyse qPCR réalisée chez les souris au terme du traitement chronique au DSS a révélé que les souris *Ncor1* ^{Δ CEI} femelles montrent une augmentation des niveaux d'expression de *Tff3* (résultats non montrés). Ce gène étant impliqué dans la régénération de l'épithélium lors de dommages (Mashimo *et al.*, 1996), il se peut que cette légère augmentation puisse avoir un lien avec l'apparition moindre de fibrose chez les femelles *Ncor1* ^{Δ CEI} au terme du traitement chronique. Ainsi, les femelles auraient donc de meilleures capacités à régénérer leur épithélium intestinal que les mâles dans ce contexte.

1.5 NCOR1 supporte la production de cellules caliciformes en condition de colite expérimentale chronique

Une diminution de la couche de mucus protectrice de l'épithélium intestinal est l'un des premiers symptômes observés chez les patients atteints de MIIs (Wu *et al.*, 2018). MUC2 est la protéine principale qui compose le mucus (Van der Sluis *et al.*, 2006). Une diminution plus importante de la quantité de cellules caliciformes et des transcrits de *Muc2* est observée chez les souris *Ncor1* ^{Δ CEI} au terme du traitement chronique au DSS. Cette diminution est également plus importante chez les souris femelles que chez les souris mâles. Une étude réalisée par Oehlers et collaborateurs a montré qu'il existerait un lien entre l'acide rétinoïque (AR) et la quantité de mucus en conditions inflammatoires (Oehlers *et al.*, 2012). Dans cette étude, les auteurs ont traité ou non des larves de poisson zèbre avec de l'AR exogène lors de l'induction d'un stress inflammatoire par l'introduction de DSS. Après 3 jours de traitement, leurs analyses glycobiochimiques ont montré que le traitement avec l'AR réduisait l'intensité de la coloration au bleu d'alcan dans l'œsophage des poissons (Oehlers *et al.*, 2012). Sachant donc qu'un traitement à l'AR diminue la quantité de cellules caliciformes chez le poisson zèbre en conditions inflammatoires et que l'absence de NCOR1 pourrait libérer la répression constitutive des récepteurs à l'acide rétinoïque dans les CEIs, il est tentant d'émettre

l'hypothèse que l'activation constitutive des récepteurs à l'AR pourrait contribuer à diminuer la différenciation des cellules caliciformes en contexte inflammatoire.

La perte d'un contrôle négatif sur l'expression de cytokines pro-inflammatoires pourrait également être une piste expliquant la diminution du nombre de cellules caliciformes chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI}. En effet, Nowarski et collaborateurs ont montré que la perte du régulateur négatif de l'interleukine-18 entraîne un dérèglement des fonctions associées aux cellules caliciformes (Nowarski *et al.*, 2015). Lors de sa sécrétion et de sa maturation via clivage par la caspase 1 (Fantuzzi *et al.*, 1999), l'interleukine-18 s'associe à son récepteur et active une cascade de signalisation menant ultimement à l'activation de NF-κB et à l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Bauernfeind *et al.*, 2009). La rétro-inhibition de la signalisation intracellulaire activée par cette interleukine doit être spécifiquement contrôlée afin d'éviter une suractivation de l'expression de gènes pro-inflammatoires. La protéine soluble « *IL-18 binding protein* (IL-18BP) » est sécrétée afin d'agir comme compétiteur négatif du récepteur de l'IL-18 lors de la réponse inflammatoire (Fantuzzi *et al.*, 2003). Dans leur étude, Nowarski et collaborateurs ont montré que la perte d'IL-18BP, entraînant une activation continue de IL-18 lors d'un stress inflammatoire par l'introduction de DSS, rendait les souris plus susceptibles à la colite expérimentale. De plus, ils ont observé une diminution significative du nombre de cellules caliciformes matures. Cette diminution n'était pas la conséquence d'une variation de l'expression des facteurs de différenciation (*Atoh1* et *Hes1*), mais bien d'une diminution de l'expression des facteurs de maturation cellulaire comme *Gfi1*, *Spdef* et *Klf4*. Ces résultats suggéraient donc que l'activation soutenue de IL-18 entraîne un dysfonctionnement dans les processus transcriptionnels de maturation cellulaire des cellules caliciformes (Nowarski *et al.*, 2015).

Il existe toutefois une différence mécanistique importante entre le mode d'action de la protéine IL-18BP et le corépresseur NCOR1 vis-à-vis l'activité intrinsèque de NF-κB. En effet, IL-18BP intervient en amont de la voie, tandis que NCOR1 intervient en aval de la voie via son interaction de proximité avec NF-κB. Dans les deux cas, les deux protéines agissent comme régulateur négatifs de la réponse inflammatoire. Sachant les dérèglements entraînés par une suractivation de la voie impliquant IL-18, voie qui ultimement active NF-

κ B, et que la perte de *Ncor1* pourrait également entraîner une suractivation de ce facteur de transcription, il est tentant d'émettre l'hypothèse que la perte de *Ncor1* jouerait sur les processus transcriptionnels de maturation cellulaire des cellules caliciformes spécifiquement en conditions inflammatoires et ce, tel qu'observé chez les souris *Ncor1*^{ACEI} au terme du traitement chronique.

1.6 Les souris mutantes pour *Ncor1* montrent une augmentation des transcrits de *Ido1* au terme d'un traitement chronique au DSS

Préalablement à ce projet de maîtrise, des études de micro-puces avaient été réalisées permettant de prédire l'augmentation spontanée des niveaux de transcrits de *Ido1* dans le côlon de souris *Ncor1*^{ACEI} âgés de 2 et 10 mois (St-Jean S, <http://hdl.handle.net/11143/10620>). IDO1 est une enzyme permettant la dégradation du Trp et son expression est souvent augmentée dans les MIIs (Wolf *et al.*, 2004). De plus, des études réalisées chez des patients ont permis de montrer que l'expression de IDO1 était plus importante lors des phases actives des MIIs (Nikolaus *et al.*, 2017) et que le ratio KYN/Trp permettait l'évaluation du pronostic chirurgical des patients atteints de colite ulcéreuse (Sofia *et al.*, 2018). Nos résultats suggèrent que *Ido1* pourrait être un gène cible de NCOR1 et ce, autant en condition d'inflammation stimulée ou non. Cette augmentation des niveaux des transcrits de *Ido1* pourrait être liée au facteur de transcription NF- κ B. La littérature rapporte que NCOR1 agit comme un corépresseur agissant sur le contrôle des gènes exprimés lorsqu'il y a activation de NF- κ B (Baek *et al.*, 2002), (Ogawa *et al.*, 2005), (Huang *et al.*, 2009). Dans leur étude, Baek et collaborateurs ont montré que l'expression de plusieurs gènes cibles pour NF- κ B est activée suite à l'exportation de NCOR1 hors du noyau, exportation qui est initialement stimulée par l'IL-1 β (Baek *et al.*, 2002). De plus, Huang et collaborateurs ont montré que l'activation de l'expression de gènes pro-inflammatoires ciblés par NF- κ B était dépendante de la phosphorylation du complexe c-Jun/NCOR1 lors de l'activation des récepteurs « *Toll-like* » par les LPS (Huang *et al.*, 2009).

La littérature rapporte également un lien entre l'expression de *Ido1* et les récepteurs « *Toll-like* » lorsque les cellules dendritiques (CDs) sont stimulées par les LPS (Von Bubnoff *et al.*, 2011). Dans cette étude, les auteurs ont soumis les CDs matures à plusieurs stimuli

inflammatoires et ont observé qu'avec une stimulation des CD aux LPS purs, toutes les cellules exprimaient IDO1. Ceci n'était pas observé quand les CD avaient été stimulées avec les interférons α et γ , un mélange de cytokines pro-inflammatoires ou avec le CD40L. Les auteurs ont également observé que l'activité enzymatique de IDO1 était maximale dans les cellules stimulées aux LPS. Ces résultats suggéraient donc que l'expression de IDO1 pourrait être médiée par une activation des récepteurs de types « *Toll-like* » (Von Bubnoff *et al.*, 2011), récepteurs menant également à l'activation du facteur de transcription NF- κ B.

Une autre équipe de recherche a montré un lien entre la voie de NF- κ B et l'activation/inhibition de IDO1 (Shon *et al.*, 2015). Dans cette étude, les auteurs ont investigué les impacts de la perte de *Ido1* systémique dans le côlon. Ils ont premièrement observé que la plus grande quantité de voies modulées à la baisse après la perte de IDO1 étaient celles liées à la réponse inflammatoire chez les souris *Ido1*^{-/-} en conditions non-stimulées. Cela suggérait alors un rôle possiblement important de l'enzyme dans ce type de réaction. En parallèle, les auteurs ont également observé une diminution de l'activation de la réponse pro-inflammatoire chez les souris *Ido1*^{-/-} par rapport à celle déclenchée chez les souris contrôles dans le contexte d'une colite expérimentale aigüe. Une des voies les plus modifiées était celle liée à la signalisation de NF- κ B, suggérant donc un lien étroit entre IDO1 et cette voie en condition de stress inflammatoire. En effet, ces variations dans la signalisation liées à NF- κ B n'étaient pas observables chez les souris mutantes en conditions non-stimulées (Shon *et al.*, 2015). Il est donc possible que NCOR1 intervienne indirectement sur la régulation transcriptionnelle de *Ido1* via NF- κ B. Des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine en fonction de la région promotrice de *Ido1* pourraient identifier de telles interactions.

De façon intrigante, les souris *Ncor1*^{ACEI} présentent des niveaux de transcrits de *Ido1* plus élevés que les contrôles, sans toutefois montrer une différence des dommages à leur épithélium colonique au terme du traitement chronique. Des études subséquentes seront nécessaires afin d'évaluer les sources cellulaires de cette modulation puisque nos analyses proviennent de l'ensemble du tissu intestinal. Par exemple, la modulation de l'expression de *Ido1* pourrait être associée aux cellules provenant de la *lamina propria* du côlon. En effet, la

littérature rapporte un rôle important de IDO1 dans la réponse inflammatoire au niveau de l'intestin via son expression dans les macrophages et les CD4 (Cherayil, 2009).

1.7 L'augmentation des transcrits de *Ido1* dans les CEIs n'influence pas le métabolisme du tryptophane de façon systémique

Puisqu'une augmentation de l'expression des transcrits de *Ido1* était observée chez les souris *Ncor1*^{ACEI}, nous avons ensuite étudié si cette modulation pouvait se refléter sur l'activité enzymatique de IDO1. Après une analyse ELISA des ratios KYN/TRP sanguins, nous remarquons que ceux-ci ne corrèlent pas avec l'augmentation de l'expression des transcrits observés au niveau du côlon des animaux. De plus, une grande variation est observée parmi les individus d'une même cohorte. Ces mesures impliquent la contribution de tous les organes impliqués dans la dégradation du Trp en kyn. La littérature rapporte que la transformation du Trp en kyn s'effectue majoritairement dans le foie et pourrait donc grandement influencer les quantités de kyn dans le plasma (Badawy et Guillemin, 2019). Une étude rapporte également que les taux de kyn circulants ne seraient pas augmentés chez les patients souffrant de cirrhose et ce, malgré une prédiction d'augmentation de l'activité enzymatique de IDO1 (Clària *et al.*, 2019). Ceci suggère que le dosage de la kyn circulante ne serait pas uniquement influencé par l'activité enzymatique de IDO1. La présence ou non d'albumine, protéine majoritaire du foie et pouvant être modifiée en cas de pathologies, influence également le ratio KYN/TRP. Dans le plasma, le Trp peut être sous une forme liée ou non à l'albumine. La forme liée est donc directement influencée par le métabolisme du foie. La forme libre est majoritairement impliquée dans la dégradation du Trp par la TDO ou IDO1 (Smith et Pogson, 1980). Le dosage de l'acide aminé et de ses métabolites peut donc être grandement influencé par le métabolisme du foie (Badawy et Guillemin, 2019). Ces informations suggèrent donc que le dosage de KYN/TRP ne reflète pas nécessairement l'activité enzymatique de IDO1. Il est important aussi de considérer que la mesure systémique du ratio KYN/TRP ne reflète pas nécessairement l'activité enzymatique de l'enzyme au niveau des CEIs.

1.8 Perspectives de l'objectif 1

Afin de mieux comprendre la cause de la diminution de cellules caliciformes chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement chronique au DSS, il serait intéressant d'étudier l'expression des gènes impliqués dans la différenciation et la maturation des CEIs. Comme mentionné plus haut, une suractivation possible de NF-κB pourrait aussi entraîner un changement dans les processus transcriptionnels menant à la maturation des cellules caliciformes. Ces aspects mériteraient d'être approfondis dans le futur.

2. Fonctions de NCOR1 dans le contexte d'un épithélium intestinal isolé en culture ex vivo

Le deuxième objectif de notre étude consistait à étudier les impacts de la perte de *Ncor1*, mais cette fois, dans un épithélium isolé de son environnement tissulaire. Ce modèle nous permettait donc d'éliminer les multiples interactions cellulaires au sein du tissu de la souris face à la perte du corépresseur et ainsi mesurer l'impact intrinsèque au niveau de la cellule épithéliale. Pour répondre à cet objectif, nous avons opté pour le modèle de colonoïdes, permettant ainsi de recréer un environnement 3D seulement composé de CEIs.

2.1 Caractérisation phénotypique et génétique des lignées de colonoïdes

2.1.1 La perte de *Ncor1* est associée à une diminution de la croissance des colonoïdes

De précédents résultats obtenus dans le laboratoire avaient suggéré un rôle pour NCOR1 dans le maintien de la prolifération des CEIs (Doyon *et al.*, 2009). En effet, lors d'un ciblage du corépresseur par stratégie d'ARN interférents, les cellules de la lignée IEC-6 réduites en expression de NCOR1 montraient un ralentissement dans leur croissance. En accord avec cette étude, une diminution de la croissance des colonoïdes provenant des souris *Ncor1*^{ΔCEI} est observée. En revanche, une étude effectuée dans les cellules hématopoïétiques a révélé que la perte de NCOR1 dans ce type cellulaire entraînait plutôt un changement dans le nombre de cellules différenciées et non une diminution de leur prolifération (Wan *et al.*, 2019). Cette étude montre en fait que les cellules déficientes pour *Ncor1* ont une

augmentation de leur prolifération tel que révélé par une augmentation d'incorporation au BrdU et d'une plus grande quantité de cellules positives au marqueur Ki-67. De plus, lors d'essais de reconstitution du système hématopoïétique en culture *ex vivo*, les cellules négatives pour *Ncor1* avaient de la difficulté à reconstituer la niche des cellules souches hématopoïétiques. Ces résultats suggéraient que la perte de NCOR1 altère les capacités de différenciation cellulaire des cellules hématopoïétiques et non leur prolifération (Wan *et al.*, 2019).

Il serait donc intéressant d'effectuer des expériences permettant de vérifier les impacts de la perte de *Ncor1* sur la prolifération cellulaire. En effet, même si le diamètre des colonoïdes *Ncor1*^{ΔCEI} est majoritairement plus petit, le nombre de ces derniers semble toutefois plus élevé lorsque visuellement comparé aux contrôles. Il se pourrait donc que le phénotype associé à la perte de *Ncor1* soit dû à d'autres processus cellulaires que ceux associés à la prolifération tels qu'une différenciation altérée ou une perte d'inhibition de certaines voies de signalisation liées à l'apoptose ou encore à l'anoïkose.

2.1.2 L'expression des transcrits du gène *Muc2* est diminuée dans les colonoïdes en culture

Tout comme observé chez les animaux au terme du traitement DSS, une diminution des transcrits de *Muc2* est observée chez les colonoïdes de souris *Ncor1*^{ΔCEI} au 6^e jour post-passage. Cette observation suggère que la diminution observée chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} malades pourrait être directement causée par une perte de *Ncor1* dans les CEIs. Comment NCOR1 pourrait directement interférer au niveau de la différenciation des cellules épithéliales dans ce contexte?

Afin de répondre aux signaux environnementaux et aux besoins cellulaires, les cellules *TA* activent ou inhibent plusieurs voies de signalisation, ce qui leur permettent de se différencier en cellules absorbantes, caliciformes ou entéroendocrines au niveau du côlon. Une des voies importantes dans ce processus est la voie de signalisation de Notch. L'activation de cette voie permet l'expression et l'activation du « *hairy/enhancer of split 1 (HES)* », régulateur négatif du facteur de transcription « *atonal homolog 1 (ATOH1)* ». Cette cascade pousse les cellules *TA* vers un profil de cellules absorbantes (Kazanjian *et al.*, 2010).

D'un autre côté, l'inhibition de cette voie permet l'expression de ATOH1 qui pousse plutôt les cellules *TA* vers un profil sécrétoire (Yang *et al.*, 2001). Une fois la différenciation absorbante ou sécrétrice initiée chez les cellules *TA*, d'autres voies de signalisation sont activées/inhibées afin de préciser le type cellulaire finalement produit.

Dans la famille des cellules sécrétrices, une inhibition de l'expression du facteur de transcription « *Krüppel-like factor 4* » (KLF4) via l'activation de HES1 induit une différenciation définitive en cellules caliciformes (Ghaleb *et al.*, 2008). KLF4 est un facteur impliqué dans les dernières étapes de différenciation cellulaire (Chen *et al.*, 2001). En effet, son expression entraîne un arrêt du cycle cellulaire, phénomène qui est observé chez les CEIs lors de leur sortie de la crypte, où elles acquièrent leur capacité de différenciation (Beumer et Clevers, 2020).

Une étude préliminaire de séquençage du transcriptome d'échantillons de colonoïdes à 3 et 6 jours post-passage a révélé une augmentation de l'expression des transcrits de *Neurog3* ainsi qu'une légère augmentation de *Klf4* chez les colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ACEI} (tableaux supplémentaires 7 à 9). Cette observation pourrait expliquer la diminution de la taille des sphéroïdes en absence de *Ncor1*. En effet, la littérature montre que l'expression de KLF4 induirait un arrêt de la progression du cycle cellulaire (Dang *et al.*, 2000) (Shie *et al.*, 2000) (Chen *et al.*, 2001). De façon plus précise, l'expression de KLF4 entraîne un arrêt du cycle cellulaire en phase G₁ et une augmentation de l'expression de p21^{WAF1/Cip1} (Chen *et al.*, 2001), inhibiteur du cycle cellulaire (Zhang *et al.*, 2000). De plus, KLF4 a également la capacité de réprimer l'expression de la cycline D1, importante dans la progression de la phase G₁ vers S (Shie *et al.*, 2000). En revanche, l'augmentation de *Neurog3* couplée à la diminution des transcrits de *Muc2* suggère un rôle pour NCOR1 au niveau de la cytodifférenciation des CEIs. En effet, l'augmentation de l'expression de ce gène marqueur des cellules entéroendocrines pourrait impliquer qu'une plus grande quantité de cellules progénitrices se différencient en celles-ci au dépend des cellules caliciformes. À noter également que la diminution des niveaux des transcrits de *Muc2* est plus prononcée et significative au 6^e jour de culture des colonoïdes, une phase beaucoup plus différenciée pour ceux-ci. Il sera pertinent d'analyser plus en profondeur les différences transcriptomiques afin

de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le changement de morphologie des colonoïdes en absence de *Ncor1*.

2.1.3 *L'expression des transcrits Idol n'est pas affectée par la perte de Ncor1 chez les colonoïdes*

Nos résultats couplés à la littérature nous portaient à émettre l'hypothèse que l'expression des transcrits de *Idol* serait également augmentée de façon intrinsèque dans les CEIs. Cependant, nos analyses qPCR montrent que la perte de *Ncor1* n'entraîne pas de changement spontané dans l'expression des transcrits de *Idol* chez les colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ΔCEI}. De plus, nos conditions expérimentales n'ont pas permis de détecter la protéine IDO1 dans les conditions non-stimulées. Une étude réalisée par Ferdinande et collaborateurs a montré que IDO1 n'est pas exprimée dans les CEIs en condition non-stimulée (Ferdinande *et al.*, 2008). Pour ce faire, les auteurs ont étudié l'expression de l'enzyme sur des coupes histologiques de la muqueuse préparées à partir de chirurgies de résection chez des patients atteints de MIIs. Leurs analyses montrent que les cellules fibroblastiques et les cellules endothéliales sont positives pour IDO1, ce qui n'est pas le cas pour les CEIs de l'iléon et du côlon des patients. En revanche, IDO1 était grandement exprimée par les cellules épithéliales adjacentes aux zones enflammées (Ferdinande *et al.*, 2008). Les résultats obtenus chez les patients concordent également avec leurs expériences dans les modèles murins soumis à des stimulations inflammatoires aiguës et chroniques. En effet, chez les souris non-stimulées, seulement les cellules immunitaires, les cellules endothéliales et les fibroblastes sont positifs pour IDO1. Lors d'une stimulation inflammatoire aiguë, tous ces mêmes types cellulaires expriment IDO1, mais également les cellules épithéliales, plus précisément celles en bordure des zones présentant de l'ulcération du côlon. Dans le modèle chronique, les cellules épithéliales positives se trouvaient davantage près des zones d'inflammation active comme les abcès de cryptes ou les agrégats de granulocytes (Ferdinande *et al.*, 2008). Cela suggère que IDO1 serait exprimée au sein des cellules épithéliales que lors d'une stimulation inflammatoire (Ferdinande *et al.*, 2008). Ces observations pourraient expliquer pourquoi il n'est pas possible de détecter la protéine dans les colonoïdes non-stimulés.

Bien que nous n'ayons pas été en mesure de détecter la protéine IDO1 chez les organoïdes en condition de base, nous avons tout de même étudié les niveaux de kyn sécrétés dans le milieu de culture des colonoïdes. Contre toutes attentes, les taux de kyn sont augmentés dans le milieu de culture des colonoïdes *Ncor1*^{ACEI}. Cette observation est surprenante puisque les niveaux d'expression de *Ido1* restent inchangés dans cette condition. Y aurait-il donc une source de génération de la kyn indépendante de l'activité enzymatique de IDO1? Les concentrations de kyn dans les milieux de cultures sont moins élevées que celles associées à des milieux de culture où les cellules ont été stimulées avec une cytokine pro-inflammatoire. En effet, la littérature rapporte que lors d'une stimulation inflammatoire, les taux de kyn peuvent être de 10 fois plus importants que ceux mesurés dans les milieux de cultures des colonoïdes (Bishnupuri *et al.*, 2019). De plus, lors des dosages de la kyn dans le plasma des souris malades, les données obtenues étaient également jusqu'à 5 fois plus élevées que celles mesurées dans les milieux de cultures de colonoïdes. Ces résultats indiquent que la quantité de kyn détectée dans les milieux de cultures des colonoïdes est de beaucoup inférieure à celle d'un organisme complet ou lors d'une stimulation inflammatoire. Cette petite quantité de kyn pourrait être due à des facteurs autres que l'activité enzymatique de IDO1.

Nos résultats suggèrent donc que *Ido1* ne serait pas une cible directe de NCOR1 dans les CEIs en conditions non-stimulées. Une étude réalisée par Ahad et collaborateurs ont montré que la perte de NCOR1 entraîne une réaction tolérogénique plus importante dans les CDs stimulées (Ahad *et al.*, 2019). Cette réaction était entre autres due à une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la tolérance immunitaire dont *Ido1* fait partie. Cette étude suggère que *Ido1* pourrait être une cible de NCOR1 mais dans un contexte inflammatoire. Afin de reproduire des conditions inflammatoires similaires à notre modèle de souris en condition de colite et celles retrouvées dans l'étude de Ferdinande et collaborateurs, nous avons réalisé des cinétiques de stimulation avec les cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et INF- γ . Ces deux cytokines ont été utilisées, car elles sont celles activant le plus l'expression de IDO1 (Mellor et Munn, 2004). Par ces essais, nous voulions également confirmer ou non l'activation de l'expression de l'enzyme dans un épithélium isolé en conditions inflammatoires. Lors de ces tests préliminaires, nous avons été en mesure

de détecter la protéine IDO1 seulement après 24h de stimulation à l'INF- γ (**Figure 18C**, Annexes). Cette observation suggère que les CEIs ont le potentiel d'exprimer la protéine IDO1. Cela confirmerait également qu'une stimulation pro-inflammatoire est nécessaire pour que les CEIs expriment IDO1, comme mentionné dans l'étude de Ferdinande et collaborateurs (Ferdinande *et al.*, 2008). Cependant et en opposition avec notre hypothèse, l'expression de la protéine semble plus importante dans les colonoïdes provenant des souris contrôles (**Figure 18C**, Annexes). En parallèle à ce résultat, une expression plus importante des transcrits de *Ido1* est observée après 24h de stimulation avec l'IL-1 β (**Figure 17C**, Annexe). De façon intéressante, la stimulation à l'IL-1 β ne semble pas affecter les niveaux d'expression des transcrits de *Ncor1* dans les colonoïdes contrôles (**Figure 17A**, Annexes), suggérant que cette cytokine n'a pas d'effet sur la délocalisation du complexe de répression. Ces résultats suggèrent que *Ido1* ne serait pas une cible directe de NCOR1 dans les cellules épithéliales intestinales et ce, même lors d'une stimulation pro-inflammatoire. À noter qu'il ne s'agit que de résultats préliminaires et qu'il sera important de répéter ces expériences. Les résultats obtenus dans notre étude suggèrent donc que l'état inflammatoire et l'environnement cellulaire sont tous deux cruciaux pour la régulation des niveaux d'expression de *Ido1*.

2.2 Perspectives de l'objectifs 2

Tout comme les résultats précédemment obtenus dans le laboratoire (Doyon *et al.*, 2009), nos données suggèrent un rôle possible de NCOR1 dans la prolifération des CEIs. En effet, les colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ACEI} ont majoritairement un plus petit diamètre après 7 jours de croissance. D'un autre côté, l'étude de Wan et collaborateurs (Wan *et al.*, 2019) ainsi que les résultats préliminaires de séquençage du transcriptome dans les colonoïdes suggèrent que cette diminution proviendrait d'un changement dans la différenciation des CEIs lors de la perte de *Ncor1*. Il serait donc intéressant de mieux caractériser la prolifération des colonoïdes via des expériences quantitatives telle que l'incorporation au BrdU. En combinaison à ces essais, il serait également intéressant d'investiguer davantage l'expression des gènes des souris *Ncor1*^{ACEI} et déterminer si l'expression des gènes associés à la différenciation des CEIs est modifiée chez les animaux au terme d'une colite chronique en comparant nos études préliminaires de séquençage du

transcriptome chez les colonoïdes invalidés pour *Ncor1*. De plus, les résultats préliminaires de stimulations inflammatoires obtenus chez les colonoïdes nous ont informé que *Ido1* ne serait peut-être pas une cible de NCOR1 dans ces conditions. De plus ces études ont montré que IDO1 est une protéine qui est exprimée après plusieurs heures de stimulations. Il serait donc intéressant et nécessaire de reproduire des cinétiques inflammatoires à l'aide des deux cytokines (IL-1 β et INF- γ), mais cette fois sur une plus longue période de temps pouvant aller jusqu'à 72h. Dans cette optique, il serait également important de bien ajuster la concentration de cytokines lors de la stimulation à long terme. En effet, des études montrent qu'une trop grande concentration d'INF- γ à long terme peut entraîner des défauts dans la morphologie des colonoïdes ou encore leur apoptose (Bardenbacher *et al.*, 2019), (Bishnupuri *et al.*, 2019), (Nava *et al.*, 2011). Cette stimulation à long terme permettrait également de reproduire les conditions d'inflammation chronique dans lesquelles le modèle de souris *Ncor1* ^{Δ CEI} a été soumis.

Chapitre 5 : Conclusions

Notre étude a permis de montrer que la perte conditionnelle de *Ncor1* dans les CEIs n'entraîne pas plus de dommage à l'épithélium intestinal au terme d'un traitement chronique au DSS. En revanche, une étude histologique par coloration bleu d'alcan a révélé un rôle possible de NCOR1 dans le maintien de la production de cellules caliciformes en conditions inflammatoires aiguës. Parallèle à cet ensemble de résultats, une diminution des transcrits de *Muc2*, un marqueur des cellules caliciformes, a également été observé en culture de colonoïdes *ex vivo*. Ceci suggère que la diminution du nombre de cellules caliciformes observée chez les souris malades provient de la perte de *Ncor1* et non d'une compensation de l'organisme entier de la souris. Les études en cultures *ex vivo* ont également permis d'énoncer une nouvelle hypothèse sur le rôle de NCOR1 en condition de régénération de l'épithélium. De façon parallèle au cycle de récupération dans le traitement au DSS chronique, les passages des colonoïdes, via un bris mécanique visant à briser les sphéroïdes et libérer les cellules souches, sont en soi une induction de stress dans lequel les capacités de régénération des CEIs à reformer une culture en 3D sont suscitées. Sans la compensation du système immunitaire comme chez la souris, il se peut alors que la perte de *Ncor1* diminue les capacités des colonoïdes à reformer des sphéroïdes normaux.

De plus, nos investigations sur le lien potentiel entre NCOR1 et *Ido1* suggèrent que ce gène ne serait pas une cible directe de NCOR1 dans les CEIs en condition non-stimulée. En effet, malgré l'augmentation prédite de l'expression de *Ido1* chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} et l'augmentation des transcrits en conditions d'inflammation chronique, aucun changement dans l'expression de *Ido1* n'est observé entre les colonoïdes contrôles et *Ncor1*^{ΔCEI} en culture *ex vivo*. De plus, les analyses préliminaires de séquençage du transcriptome ne montrent aucune variation dans l'expression de ce gène. Cette augmentation pourrait donc provenir d'une compensation de l'organisme lors de l'induction d'un stress inflammatoire. De plus, les études préliminaires de cinétiques par stimulation avec des cytokines pro-inflammatoires (IL-1β et INF-γ) suggèrent que NCOR1 n'intervient pas sur la régulation de l'expression de *Ido1*. En effet, l'expression de *Ido1* semble également plus importante dans cette lignée après 24h de stimulation. De plus, l'expression de IDO1 ne semble pas plus importante dans les

colonoïdes lors de la stimulation à l'INF- γ . Tout comme avec la stimulation à l'IL-1 β , où les transcrits de *Ido1* semblent plus importants, le niveau d'expression de la protéine semble également être plus important chez les contrôles que chez les colonoïdes *Ncor1*^{ACEI}. Cet ensemble de résultats suggèrent donc que *Ido1* ne serait pas une cible directe de NCOR1 dans l'épithélium intestinal.

Chapitre 6 : Perspectives

Les résultats obtenus dans notre laboratoire ainsi que la littérature suggèrent que les impacts de la perte de *Ncor1* seraient plus importants dans l'initiation d'une colite expérimentale. Par contre, notre analyse n'a pu vérifier en détails l'état histologique des souris tout au long du traitement expérimental. Il serait intéressant de reproduire les expériences DSS chez des souris contrôles et *Ncor1*^{ACEI} en changeant quelques paramètres expérimentaux. Une première approche serait de refaire le même traitement mais avec une plus grande cohorte de souris. Un nombre plus élevé de souris nous permettrait de sacrifier de 3 à 4 souris à la fin de chacun des cycles de récupération. Les multiples analyses histologiques à réaliser nous permettraient ainsi d'évaluer l'état histologique du tissu des souris au cours du développement de la maladie. Il serait attendu que les souris *Ncor1*^{ACEI} montrent plus de dommages épithéliaux lors des premiers cycles de DSS. Constat qui était également observé dans notre étude via une perte de poids plus prononcée et une reprise de cette perte plus difficile chez les souris *Ncor1*^{ACEI} dans les périodes de récupération du traitement.

Une seconde approche serait de refaire le même traitement chronique au DSS et d'effectuer des examens en continu sur les mêmes souris pendant toute la durée du traitement. Dans cette optique, il serait intéressant d'effectuer des colonoscopies et de récolter de petites biopsies de tissus tout au long du traitement pour voir la progression de la maladie à plusieurs temps. Kodani et collaborateurs ont mis au point une technique d'analyse permettant de suivre la progression des MIIs chez les souris par endoscopie (Kodani *et al.*, 2013). Cette technique permet d'évaluer l'état de la muqueuse du système digestif selon des critères précis. Elle permet également de prélever des échantillons de tissus dans les zones

sélectionnées (inflammation, polype, tumeur ou morphologie anormale) (Kodani *et al.*, 2013). Cela permettrait également de faire le lien avec les études cliniques qui ont suivi la progression de la maladie chez une même cohorte d'individus pendant plusieurs années afin de mieux caractériser les phases active et de rémission des patient atteints de MIIs.

Une autre piste de recherche à investiguer autant chez les souris que dans les cultures de colonoïdes serait l'étude du lien entre NCOR1 et l'arginase 2 (*Arg2*). Notre analyse préliminaire de séquençage du transcriptome réalisée dans les colonoïdes à 3 et 6 jours de croissance post-passage révèle une induction importante des transcrits du gène *Arg2* (17,3 fois et 34,6 fois au 3^e et 6^e jours de croissance, respectivement). L'expression de ce gène était également prédite pour être augmenté de 4,15 fois chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} âgées de 2 et 10 mois (St-Jean S., <http://hdl.handle.net/11143/10620>).

La L-arginine est un acide aminé semi-essentiel important pour la synthèse protéique et peut également être synthétisée par le corps. Cela signifie également que sa biodisponibilité ne provient pas strictement de la diète. Cependant, en conditions de stress, la quantité de cet acide aminé peut être diminuée, comme dans le cas de la colite ulcéreuse (Coburn *et al.*, 2016). L'entrée dans la cellule de la L-arginine est possible grâce à l'action des transporteurs des acides aminés cationiques (CAT). Une fois dans la cellules, cet acide aminé peut être transformé en oxide nitrique (NO) ou en L-ornithine et urée par l'oxide nitrique synthase (NOS) ou par l'arginase, respectivement (Singh *et al.*, 2012). Cela signifie également que les deux enzymes sont en compétition pour le même substrat (Mori, 2007). En d'autres mots, lorsque l'activité enzymatique de NOS augmente, il y a une diminution de la L-arginine disponible au dépourvue de l'arginase et vice versa. De façon générale, la littérature rapporte un rôle protecteur de cet acide aminé dans les MIIs (Coburn *et al.*, 2012), (Singh *et al.*, 2012), (Fotiadis *et al.*, 2007) (Gurbuz *et al.*, 1998). Dans leur étude, Singh et collaborateurs ont montré qu'une supplémentation de L-arginine dans le milieu de culture de cellules provenant de côlons de jeunes souris adultes améliorait les capacités de réparation de blessure dans des essais de blessure en monocouche, ce qui était également accompagné d'une augmentation de la synthèse protéique (Singh *et al.*, 2012). De plus, Coburn et

collaborateurs ont montré qu'une supplémentation en L-arginine diminuait les effets du DSS (Coburn *et al.*, 2012).

Comme mentionné plus haut, l'augmentation de l'activité enzymatique de l'ARG2 diminue la quantité de substrat de NOS, diminuant également les quantités de NO. Cette diminution peut également avoir un impact négatif sur la régulation vasculaire, l'immunité de l'hôte ou encore dans les processus de neurotransmission, systèmes dans lesquels le NO joue un rôle important (Ignarro, L. J., PhD, Nitric Oxide Biology and Pathobiology, 2000). Le NO possède des propriétés protectrices, car il est capable de réguler le flux sanguin et la génération de mucus dans l'intestin (Petersson *et al.*, 2007). De plus, Brown et collaborateurs ont montré que lorsque les cellules intestinales de rat sont isolées, mises en culture *ex vivo* et stimulées avec des précurseurs de NO soit le dinitrate d'isosorbide et le S-nitroso-N-acetylpenicillamine, elles ont une plus grande capacité à sécréter du mucus (Brown *et al.*, 1993). Ces résultats indiquent donc un rôle important de NO dans l'intégrité de la barrière de mucus. La diminution de l'activité enzymatique de NOS causée par une possible augmentation de l'expression de l'ARG2, diminuant ainsi la quantité de NO au sein des CEIs, pourrait être la source de la diminution de l'expression de *Muc2* dans les colonoïdes et à plus grande échelle, celle retrouvée chez les souris *Ncor1*^{ΔCEI} au terme du traitement chronique.

L'ARG2 est majoritairement exprimée dans la matrice mitochondriale de plusieurs tissus non-hépatiques comme l'intestin grêle et les reins. Elle est également connue pour son rôle dans la dernière étape du cycle de l'urée où elle transforme la L-arginine en L-ornithine ou en urée. La littérature rapporte également une augmentation de l'expression de l'ARG1 dans la muqueuse des patients atteints de MIIs (Baier *et al.*, 2020), (Horowitz *et al.*, 2007), (Pillai *et al.*, 1999). Dans le même ordre d'idées, une étude rapporte également qu'une supplémentation en L-arginine réduit la sévérité des symptômes associés à la colite tout en augmentant la réparation de la muqueuse chez les rats dans un contexte d'ischémie (Fotiadis *et al.*, 2007). Ce constat est également confirmé dans le côlon du modèle murin soumis au DSS. De plus, une étude récemment publiée par Baier et collaborateurs a montré que l'inactivation de *Arg1* diminuait la sévérité de la maladie lors de l'induction de la colite par

le DSS ou par l'oxazolone (Baier *et al.*, 2020). Dans cette étude, les auteurs ont premièrement confirmé qu'il existait bien une augmentation de l'expression de *Arg1* chez les patients atteints de la maladie de Crohn ou de la colite ulcéreuse. Ils ont également montré que la délétion de *Arg1* dans les cellules endothéliales et hématopoïétiques diminuait la sévérité de la colite lors de l'introduction du DSS ou de l'application de l'oxazolone. De façon encore plus intéressante, la délétion de *Arg1* dans les cellules endothéliales et myéloïdes, combiné à la délétion de *Arg2* diminue encore plus les symptômes reliés à la colite ulcéreuse. Ces résultats suggèrent donc un rôle important de la biodisponibilité de la L-arginine dans la protection intestinale contre la colite (Baier *et al.*, 2020).

Un argument suggérant que le gène *Arg2* soit une cible directe de NCOR1 provient de l'étude qui rapporte que les récepteurs nucléaires de types LXR α exercent un contrôle sur l'expression de celui-ci dans les macrophages (Marathe *et al.*, 2006). Dans cette étude, les auteurs ont montré que le promoteur du gène *Arg2* possède des éléments de réponse au dimère formé par les récepteurs nucléaires LXR et RXR. Pour ce faire, ils ont premièrement réalisé des essais de transfection dans lesquelles ils ont surexprimé les récepteurs LXR α et β dans la lignée de macrophages RAW264.7. Ils ont observé une augmentation de l'expression de *Arg2*, augmentation qui était majorée lorsque les cellules étaient stimulées avec des agonistes synthétiques des LXR α et des RXR α . Des expériences complémentaires ont également montré que l'ajout de LPS pouvait induire l'expression de *Arg2* dans les macrophages, ce qui n'était pas le cas lorsque LXR α et β étaient invalidés. Ces résultats suggèrent donc que l'expression de *Arg2* est influencée par ces récepteurs nucléaires (Marathe *et al.*, 2006). Puisque NCOR1 agit également sur le contrôle de ce type de récepteurs nucléaires, il est donc possible d'émettre l'hypothèse qu'il y aurait un lien mécanistique entre l'enzyme et le corépresseur. Il serait intéressant d'investiguer davantage les impacts de la perte de *Ncor1* sur l'expression et le métabolisme de *Arg2*. Est-ce que cette augmentation corrèle avec l'augmentation de la sévérité de la maladie chez les souris *Ncor1*^{ACEI}? Est-ce que l'augmentation de l'expression du gène traduit également une augmentation de son activité enzymatique? Quels sont les impacts de cette augmentation sur le métabolisme des CEIs? Il se pourrait que les phénotypes observés chez les souris et les colonoïdes *Ncor1*^{ACEI} soient une conséquence du changement dans le métabolisme associé à

l'ARG2. Des résultats préliminaires confirment une augmentation de l'expression de *Arg2* chez les colonoïdes et chez les souris déficientes pour *Ncor1* au terme du traitement au DSS (**Figure 19**, ANNEXES). Il serait intéressant de confirmer l'augmentation de l'expression de la protéine ARG2 chez les colonoïdes *Ncor1*^{ΔCEI}. La littérature n'a pas à ce jour rapporté l'expression de celle-ci dans les CEIs, sauf pour une étude qui rapporte une détection de la protéine suite à la stimulation de la lignée IEC-6 par les LPS (Talavera *et al.*, 2017). Il serait également intéressant d'étudier l'activité enzymatique de l'ARG2, afin de confirmer que son expression protéique correspond également à son activation. Pour se faire, il faudrait être en mesure de quantifier les niveaux d'urée dans le milieu de culture. En effet, l'urée est le métabolite généré lors de la dégradation de la L-arginine par l'action de l'ARG2. Il serait également intéressant d'étudier les effets de l'ajout d'un inhibiteur de l'ARG2 sur le phénotype atypique observé chez les colonoïdes *Ncor1*^{ΔCEI}. En effet, une étude réalisée par Lewis et collaborateurs a montré que l'ajout de « *S*-(2-boronoethyl)-L-cystéine (BEC) » diminuait significativement l'activité de l'arginase, permettant également une augmentation de celle de NOS dans les macrophages (Lewis *et al.*, 2010). Est-ce que l'ajout de cet inhibiteur permettrait un retour de l'expression de *Muc2* étant donné le rôle important de NOS dans la formation de mucus? Il serait aussi intéressant de vérifier si l'ajout de L-arginine à des concentrations inférieures ou supérieures à 0,1mM, concentration physiologique présente dans le sérum des souris et des humains (Singh *et al.*, 2012), pourrait compenser l'augmentation de l'activité enzymatique de l'ARG2 en rétablissant l'équilibre ARG2/NOS. Le bris mécanique induit lors du passage des colonoïdes pouvant mimiquer la « destruction » de l'épithélium intestinal lors de stress inflammatoires, il se pourrait que l'augmentation de l'ARG2, diminuant également la disponibilité de la L-arginine dans le milieu de culture, diminue les capacités des colonoïdes *Ncor1*^{ΔCEI} à reconstituer une morphologie sphéroïdique.

Références

Adachi, M., Kurotani, R., Morimura, K., Shah, Y., Sanford, M., Madison, B. B., Gumucio, D. L., Marin, H. E., Peters, J. M., Young, H. A., Gonzalez, F. J., (2006) Peroxisome proliferator activated receptor γ in colonic epithelial cells protects against experimental inflammatory bowel disease. *Gut*, 55(8), 1104-1113.

Ahad, A., Stevanin, M., Smita, S., Mishra, G. P., Gupta, D., Waszak, S., Sarkar, U. A., Basak, S., Gipta, B., Acha-Orbea, H., Raghav, S. K., (2019) NCoR1: Putting the brakes on the Dendritic Cell Immune Tolerance. *iScience*, 19, 996-1011.

Alenghat, T., Meyers, K., Millucan, S. E., Leitner, K., Adeniji-Adele, A., Avila, J., Bucán, M., Ahima, R. S., Kaestner, K. H., Lazar, M. A., (2008) Nuclear Receptor Corepressor and Histone Deacetylase 3 Govern Circadian Metabolic Physiology. *Nature*, 456(7224), 997-1000.

Astaoiva, I., Lee, L. J., Morales, C., Tauber, S., Bilban, M., Hollenberg, A. N., (2008) The Nuclear Corepressor, NCoR, Regulates Thyroid Hormone Action in Vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(49), 19544-19549.

Astapova, I., Vella, K. R., Ramadoss, P., Holtz, K. A., Rodwin, B. A., Liao, X. H., Weiss, R. E., Rosenberg, M. A., Rosenzweig, A., Hollenberg, A. N., (2011) The Nuclear Receptor Corepressor (NCoR) Controls Thyroid Hormone Sensitivity and the Set Point of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis. *Molecular Endocrinology*. 25(2), 212-224.

Badawy, A. A.-B., et Guillemin, G., (2019) The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *International Journal of Tryptophan Research*, 12, 1-10.

Baek, S. H., Ohgi, K. A., Rose, D. W., Koo, E. H., Glass, C. K., Rosenfeld, M. G., (2002) Exchange of N-CoR Corepressor and Tip60 Coactivator Complexes Links Gene Expression by NF- κ B and β -Amyloid Precursor Protein. *Cell*, 110(1), 55-67.

Baier, J., Gänsbauer, M., Giessler, C., Arnold, H., Muske, M., Schleicher, U., Lukassen, S., Ekici, A., Rauh, M., Daniel, C., Hartmann, A., Schmid, B., Tripal, P., Dettmer, K., Oefner, P. J., Atreya, R., Wirtz, S., Bogdan, C., Mattner, J., (2020) Arginase impedes the resolution of colitis by altering the microbiome and metabolome. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 5703-5720.

Bannister, A. J., Kouzarides, T., (2011) Regulation of Chromatin by Histone Modifications. *Cell Research*, 21(3), 381-395.

Bardenbacher, M., Ruder, B., Britzen-Laurent, N., Schid, B., Waldner, M., Naschberger, E., Scharl, M., Müller, W., Günther, C., Becker, C., Stürzl, M., Tripal, P., (2019) Permeability

analyses and three dimensional imaging of interferon gamma-induced barrier disintegration in intestinal organoids. *Stem Cell Research*, 35(June 2018), 101383.

Barker, N., van de Wetering, M., Clevers, H., (2008) The Intestinal Stem Cell. *Genes and Development*, 22(14), 1856-1864.

Bauernfeind, F. G., Horvath, G., Stutz, A., Elnemri, E. S., MacDonald, K., Speert, D., Fernandes-Alnemri, T., Wu, J., Monks, B. G., Fitzgerald, K. A., Hornung, V., Latz, E., (2009) Cutting Edge: NF- κ B Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptor License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulation NLRP3 Expression. *The Journal of Immunology*, 183(2), 787-791.

Baulies, A., Angelis, N., Li, V. S. W., (2020) Hallmarks of Intestinal Stem Cells. *Development (Cambridge)*, 147(15), 1-12.

Bernstein, C. N., Wajda, A., Svenson, L. W., MacKenzie, A., Koehoorn, M., Jackson, M., Fedorak, R., Israel, D., Clanchard, J. F., (2006) The Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease in Canada: A Population-Based Study. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(7), 1559-1568.

Beumer, J., et Clevers, H., (2021) Cell Fate Specification and Differentiation in the Adult Mammalian Intestine. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22, 29-53

Bhuatani, V. K., Johnson-Hamerman, L., (2015) The Clinical Syndrome of Bilirubin-Induced Neurologic Dysfunction. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 20(1), 6-13.

Bosma, P. J., Chowdhury, C. B., Bakker, C., Gantla, S., de Boer, A., Oostra, B. A., Lindhout, D., Tytgat, G. N. J., Jansen, P. L. M., Oude Elferink, R. P. J., Roy Chowdhury, N., (1995) The Genetic Basis of the Reduced Expression of Bilirubin UDP-Glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's Syndrome. *New England Journal of Medicine*, 333(18), 1171-1175.

Bishnupuri, K. S., Alvarado, D. M., Khouri, A. N., Shabsovich, M., Chen, B., Dieckgraefe, B. K., Ciorba, M. A., (2019) IDO1 and Kynurenine Pathway Metabolites Activates PI3K-Akt Signaling in the Neoplastic Colon Epithelium to Promote Cancer Cell Proliferation and Inhibit Apoptosis. *Cancer Research*, 79(6), 1138-1150.

Bouma, G., Strober, W., (2003) The Immunological and Genetic Basis of Inflammatory Bowel Disease. *Nature Reviews Immunology*, 3(7), 521-533.

Brown, J. F., Keates, A. C., Hanson, P. J., Whittle, B. J. R., (1993) Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*, 265(3), G418-G422.

Canli, T., Peter Lesch, K., (2007) The long Story Short: The Serotonin Transporter in Emotion Regulation and Social Cognition. *Nature Neuroscience*, 10(2), 1103-1109.

- Castillo-Azofeifa, D., Fazio, E. N., Nattiv, R., Good, H. J., Wald, T., Pest, M. A., Sauvage, F. J., Klein, O. D., Asfaha, S., (2019) Atoh1 + Secretory Progenitors Possess Renewal Capacity Independent of Lgr5⁺ Cells during Colonic Regeneration. *The EMBO Journal*, 38(4), 1-16.
- Cervenka, I., Agudelo, L. Z., Ruas, J. L., (2017) Kynurenines: Tryptophan's Metabolites in Exercise, Inflammation, and Mental Health. *Science*, 357(6349), 1-8.
- Chen, S., Beaton, D., Nguyen, N., Senekeo-Effenberger, K., Brace-Sinnokrak, E., Argikar, U., Remmel, R. P., Trottier, J., Barbier, O., Ritter, J. K., Tuerkey, R. H., (2005) Tissue-Specific, Inducible and Hormonal Control of the Human UDP-Glucuronosyltransferase-1 (UGT1) Locus. *Journal of Biological Chemistry*, 280(45), 37547-37557
- Chen, S., Lu, W., Yueh, M. F., Rettenmeier, E., Liu, M., Auwerx, J., Yu, R. T., Evans, R. M., Wang, K., Karin, M., Tukey, R. H., (2017) Intestinal NCoR1, a Regulator of Epithelial Cell Maturation, Controls Neonatal Hyperbilirubinemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(8), E1432-1440.
- Chen, X., Johns, D. C., Geiman, D. E., Marban, E., Dang, D. T., Hamlin, G., Sun, R., Yang, V. W., (2000) Krüppel-like Factor 4 (Gut-enriched Krüppel-like Factor) Inhibits Cell Proliferation by Blocking G₁/S Progression of the Cell Cycle. *Journal of Biological Chemistry*, 276(32), 30423-30428.
- Chen, Y., Yu, Q., Xu, C. B., (2017) A Convenient Method for Quantifying Collagen Fibers in Atherosclerotic Lesions by ImageJ Software. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10(10), 14904-14910.
- Cherayil, B. J., (2009) Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Intestinal Immunity and Inflammation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(9), 1391-1396.
- Chun, J., Prince, A., (2006) Activation of Ca²⁺-Dependent Signaling by TLR2. *The Journal of Immunology*, 177(2), 1330-1337.
- Ciccarone, F., Zampieri, M., Caiafa, P., (2017) PARP1 Orchestrates Epigenetic Events Setting up Chromatin Domains. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 63, 123-134.
- Ciorba, M. A., (2013) Indoleamine 2,3 Dioxygenase in Intestinal Disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 29(2), 146-152.
- Clària, J., Moreau, R., Fenaille, F., Amorós, A., Junot, C., Gronbaek, H., Coenraad, M. J., Pruvost, A., Ghetta, A., Chu-Van, E., López-Vicario, C., Oettl, K., Caraceni, P., Alessandria, C., Trebicka, J., Pavesi, M., Deulofeu, C., Albillos, A., Gustot, T., Welzel, T. M., Fernández, J., Stauber, R. E., Saliba, F., Butin, N., Colsch, B., Moreno, C., Durand, F., Nevens, F., Bañares, R., Benten, D., Ginès, P., Gerbes, A., Jalan, R., Angeli, P., Bernardi, M., Arroyo, V., (2019) Orchestration of Tryptophan-Kynurenine Pathway, Acute

Decompensation, and Acute-on-Chronic Liver Failure in Cirrhosis, *Hepatology*, 69(4), 1686-1701.

Coburn, L. A., Gong, X., Singh, K., Asim, M., Scull, B. P., Allaman, M. M., Williams, C. S., Rosen, M. J., Washington, M. K., Barry, D. P., Piazuelo, M. B., Casero Jr, R. A., Chaturvedi, R., Zhao, Z., Wilson, K. T., (2012) L-arginine Supplementation Improves Responses to Injury and Inflammation in Dextran Sulfate Sodium Colitis. *PLoS ONE*, 7(3), e33546.

Coburn, L. A., Horst, S. N., Allaman, M. M., Brown, C. T., Williams, C. S., Hodges, M. E., Druce, J. P., Beaulieu, D. B., Schwartz, D. A., Wilson, K. T., (2016) L-Arginine Availability and Metabolism Is Altered in Ulcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(8), 1847-1858.

Cohen, R. N., Brzostek, S., Kim, B., Chorev, M., Wondisford, F. E., Hollenberg, A. N., (2001) The Specificity of Interactions between Nuclear Hormone Receptors and Corepressors Is Mediated by Distinct Amino Acid Sequences within the Interacting Domains. *Molecular Endocrinology*, 15(7), 1046-1061.

Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S., Sedergran, D. J., (1993) Clinicopathologic Study of Dextran Sulfate Sodium Experimental Murine Colitis. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 69(2), 238-239.

Dai, X., Zhu, B. T., (2010) Indoleamine 2,3 Dioxygenase Tissue Distribution and Cellular Localization in Mice : Implications for Its Biological Functions. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 58(1), 17-28.

Dai, Z., Ramesh, V., Locasale, J. W., (2020) The Evolving Metabolic Landscape of Chromatin Biology and Epigenetics. *Nature Reviews Genetics*, 21(12), 737-753.

Doyon, G., St-Jean, S., Darsigny, M., Asselin, C., Boudreau, F., (2009) Nuclear Receptor Co-Repressor Is Required to Maintain Proliferation of Normal Intestinal Epithelial Cells in the Culture and down-Modulates the Expression of Pigment Epithelium-Derived Factor. *Journal of Biological Chemistry*, 284(37), 25220-25229.

Dutta, A., Abmayr, S. M., Workman, J. L., (2016) Diverse Activities of Histone Acylations Connect Metabolism to Chromatin Function. *Molecular Cell*, 63(4), 547-552.

Emmett, M. J., Lazar, S. M., (2019) Integrative Regulation of Physiology by Histone Deacetylase 3. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(2), 102-115.

Fantuzzi, G., Banda, N. K., Guthridge, C., Vondracek, A., Kim, S.-H., Siegmund, B., Azam, T., Sennello, J. A., Dinarello, C. A., Arend, W.P., (2003) Generation and characterization of mice transgenic for human IL-18-binding protein isoform α . *Journal of Leukocyte Biology*, 74(5), 889-896.

- Fantuzzi, G., Reed, D. A., Dinarello, C. A., (1999) IL-12-induced IFN- γ is dependent on caspase-1 processing of the IL-18 precursor. *Journal of Clinical Investigation*, 104(6), 761-767.
- Feng X., Jiang, Y., Meltzer, P., Yen, P. M., (2001) Transgenic Targeting of a Dominant Negative Corepressor to Liver Blocks Basal Repression by Thyroid Hormone Receptor and Increases Cell Proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(18), 15066-15072.
- Ferdinande, L., Demetter, P., Perez-Novo, C., Waeytens, A., Taideman, J., Rottiers, I., Rottiers, P., DE Vos, M., Cuvelier, C. A., (2008) Inflamed intestinal mucosa features a specific epithelial expression pattern of indoleamine 2,3-dioxygenase. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 21(2), 289-295.
- Fotiadis, C., Adamis, S., Misiakos, E. P., Genetzakis, M., Antonakis, P.T., Tsekouras, D. K., Gorgoulis, V. G., Zografos, G. G., Papalois, A., Fotinou, M., Perrea, D., (2007) The prophylactic effect of L-arginine in acute ischaemic colitis in a rat model of ischaemia/reperfusion injury. *Acta Chirurgica Belgica*, 107(2), 192-2000.
- Fozzatti, L., Lu, C., Kim, D. W., Park, J. W., Astapova, I., Gavrilova, O., Willingham, M. C., Hollenbegr, A. N., Cheng, S. Y., (2011) Resistance to Thyroid Hormone Is Modulated in Vivo by the Nuclear Receptor Corepressor (NCOR1). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(42), 17462-17467.
- Gearry, R. B., Richardson, A., Frampton, C. M. A., Collett, J. A., Burt, M. J., Chapman, B. A., Barclay, M. L., (2006) High incidence of Crohn's disease in Canterbury, New Zealand: Results of an epidemiologic study. *Inflammatory Bowel Diseases*, 12(10), 936-943.
- Gelman, L., Zhou, G., Fajas, L., Rasp., E., Fruchart, J.-C., Auwerx, J., (1999) p300 Interacts with the N- and C-terminal Part of PPAR γ 2 in a Ligand-independent and -dependent Manner, Respectively. *Journal of Biological Chemistry*, 274(12), 7681-7688.
- Ghaleb, A. M., Aggarwal, G., Bialkowska, A. B., Nandan, M. O., Yang, V. W., (2008) Notch Inhibits Expression of the Krüppel-Like Factor 4 Tumor Suppressor in the Intestinal Epithelium. *Molecular Cancer Research*, 6(12), 1920-1927.
- Ghisletti, S., Huang, W., Jepsen, K., Benner, C., Hardiman, G., Rosenfeld, M. G., Glass, C. K., (2009) Cooperative NCoR/SMRT Interactions Establish a Corepressor-Based Strategy for Integration of Inflammatory An Anti-Inflammatory Signaling Pathways. *Genes and Development*, 23(6), 681-693.
- Ghosh, A.K., Bhattacharyya, S., Wei, J., Kim, S., Barak, Y., Mori, Y., Varga, J., (2009) Peroxisome proliferator-activated receptor- γ abrogates Smad-dependent collagen stimulation by targeting the p300 transcriptional coactivator. *The FASEB Journal*, 23(9), 2968-2977.

- Ghosh, A. K., Yuan, W., Mori, Y., Chen, S.-J., Varga, J., (2001) Antagonistic Regulation of Type I Collagen Gene Expression by Interferon- γ and Transforming Growth Factor- β . *Journal of Biological Chemistry*, 276(14), 11041-11048.
- Glass, C. K., Ogawa, S., (2006) Combinatorial Roles of Nuclear Receptors in Inflammation and Immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6(1), 44-55.
- Glass, C. K., Rosenfeld, M. G., (2000) The Coregulator Exchange in Transcriptional Functions of Nuclear Receptors. *Genes and Development*, 14(2), 121-141.
- Goodman, W. A., Erkkila, I. P., Pizarro, T. T., (2020) Sex matters: impact on pathogenesis, presentation and treatment of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17(12), 740-754.
- Gordon, I. O., Agrawal, N., Goldblum, J. R., Fiocchi, C., Rieder, F., (2014) Fibrosis in Ulcerative Colitis: Mechanisms, Features, and Consequences of a Neglected Problem. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(11), 2198-2206.
- Gribble, F. M., Reimann, F., (2016) Enteroendocrine Cells : Chemosensors in the Intestinal Epithelium. *Annual Review of Physiology*, 78, 277-299
- Guenther, M. G., Barak, O., Lazar, M. A., (2001) The SMRT and N-CoR Corepressors Are Activating Cofactors for Histone Deacetylase 3. *Molecular and Cellular Biology*, 21(18), 6091-6101.
- Haber, A. L., Biton, M., Rogel, N., Herbst, R. H., Shekhar, K., Smillie, C., Burgin, G., Delorey, T. M., Howitt, M. R., Katz, Y., Tirosch, I., Beyaz, S., Dionne, D., Zhang, M., Raychowdhury, R., Garrett, W. S., Rozenblatt-Rosen, O., Ning Shi, H., Yilmaz, O., Xavier, R. J., Regev, A., (2017) A single-cell survey of the small intestinal epithelium. *Nature*, 551(7680), 333-339.
- Hammer, T., Bielsen, K. R., Munkholm, P., Burisch, J., Lynge, E., (2016) The Faroese IBD Study: Incidence of Inflammatory Bowel Diseases Across 54 Years of Population-Based Data. *Journal of Crohn's and Colitis*, 10(8), 934-942.
- Harrington, L., Srikanth, C. V., Antony, R., Rhee, S. J., Mellor, A. L., Hai, N. S., Cheratil, B. J., (2008) Deficiency of Indoleamine 2,3 Dioxygenase Enhances Commensal-Induced Antibody Responses and Protects against Citrobacter Rodentium-Induced Colitis. *Infection and Immunity*, 76(7), 3045-3053.
- Herrmann, A., Davies, J. R., Lindell, G., Mårtensson, S., Packer, N. H., Swallow, D. M., Carlstedt, I., (1999) Studies on the “insoluble” Glycoprotein Complex from Human Colon: Identification of Reduction-Insensitive MUC2 Oligomers and C-Terminal Cleavage. *Journal of Biological Chemistry*, 274(22), 15828-15836.

Hörlein, A J., Näär, A. M., Heinzel, T., Torchia, J., Gloo, B., Kurokawa, R., Ryan, A., Kamei, Y., Söderström, M., Glass, C. K., Rosenfeld, M. G., (1995) Ligand-Independent Repression by the Thyroid Hormone Receptor Mediated by a Nuclear Receptor Co-Repressor. *Nature*, 377(6548), 397-404.

Horowitz, S., Binion, D. G., Nelson, V. M., Kanaa, Y., Javadi, P., Lazarova, Z., Andrekopoulos, C., Kalyanaraman, B., Otterson, M. F., Rafiee, P., (2007) Increased arginase activity and endothelial dysfunction in human inflammatory bowel disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(5), G1323-G1336.

Hu, X., Lazar, M A., (1999) The CoRNR Motif Controls the Recruitment of Compressors by the Nuclear Hormone Receptors. *Nature*, 402(6757), 93-96.

Huang, W., Ghisletti, S., Perissi, V., Rosenfeld, M. G., Glass, C. K., (2009) Transcriptional Integration of TLR2 et TLR4 Signaling at the NCoR Derepression Checkpoint. *Molecular Cell*, 35(1) 48-57.

Jakobsson, T., Vedin, L.-L., Hassan, T., Venteclef, N., Greco, D., D'Amato, M., Treuter, E., Gustafsson, J.-Å., Steffensen, K. R., (2014) The oxysterol receptor LXR β protects against DSS- and TNBS-induced colitis in mice. *Mucosal Immunology*, 7(6), 1416-1428.

Jepsen, K., Hermanson, O., Onami, T. M., Gleiberman, A. S., Lunyak, V., McEvilly, R. J., Kurokawa, R., Kumar, V., Liu, F., Seto, E., Hedrick, S. M., Mandel, G., Glass, C. K., Rose D. W., Rosenfeld, M. G., (2000) Combinatorial Roles of the Nuclear Receptor Corepressor in Transcription and Development. *Cell*, 102(6), 753-763.

Jia, M., Dahlman-Wright, K., Gustafsson, J.-Å., (2015) Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 29(4), 557-568.

Johansson, M. E. V., Phillipson, M., Paterisson. J., Velcich, A., Holm. L., Hansson, G. C., (2008) The Inner of the Two Muc2 Mucin-Dependent Mucus Layers in Colon is Devoid of Bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 105(39), 15064-15069.

Kanaya, T., Hase, K., Takahashi, D., Fukuda, S., Hoshino, K., Sasaki, I., Hemmi, H., Knoop, K. A., Kumar, N., Sato, M., Katsuno, T., Yokosuka, Y., Toyooka, K., Nakai, K., Sakamoto, A., Kitahara, Y., Jinnohara, T., Mcsorley, S. J., Kaisho, T., Williams, I R., Ohno, H., (2012) The Ets Transcription Factor SpiB Is Essential for the Differentiation the Intestinal Microfold Cells. *Nature Immunology*, 13(8), 729-736.

Kazanjian, A., Noah, T., Brown, D., Burkart, J., Shroyer, N. F., (2010) Atonal Homolog 1 Is Required for Growth and Differentiation Effects of Notch/ γ -secretase Inhibitors on Normal and Cancerous Intestinal Epithelial Cells. *Gastroenterology*, 139(3), 918-928.e6.

- Kiesler, P., Fuss, I. J., Strober, W., (2015) Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 1(2), 154-170.
- Kim, K., Boo, K., Yu, Y. S., Oh, S. K., Kim, H., Jeon, Y., Bhin, J., Hwang, D., Kim, K. I., Lee, J.-S., Im, S.-S., Yoon, S. G., Kim, I. Y., Seong, J. K., Lee, H., Fang, S., Baek, S. H., (2017) ROR α controls hepatic lipid homeostasis via negative regulation of PPAR γ transcriptional network. *Nature Communications*, 8(1), 162.
- Kodani, T., Rodriguez-Palacios, A., Corridoni, D., Lopetuso, L., Di Martino, L., Marks, B., Pizarro, J., Pizarro, T., Chak, A., Cominelli, F., (2013) Flexible Colonoscopy in Mice to Evaluate the Severity of Colitis and Colorectal Tumors Using a Validated Endoscopic Scoring System. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 16(80), e50843.
- Kosinski, C., Li, V. S. W., Chan, A. S. Y., Zhang, J., Ho, C., Wai, Y. T., Tsun, L. C., Mifflin R. C., Powell, D. W., Siu, T. Y., Suet, Y. L., Chen, X., (2007) Gene Expression Patterns of Human Colon Tops and Basal Crypts and BMP Antagonists as Intestinal Stem Cell Niche Factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(39), 15418-15423.
- Krasnov, A. N., Mzina, M. Y., Nikolenko, J. V., Vorobyava, N. E., (2016) On the Way of Revealing Coactivator Complexes Cross-Talk during Transcriptional Activation. *Cell and Bioscience*, 6(1), 1-14.
- Langen, M. L., Hotte, N., Dieleman, L. A., Albert, E., Mulder, C., Madsen, K. L., (2011) Estrogen receptor- β signaling modulates epithelial barrier function. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 300(4), 621-626.
- Langholz, E., Munkholm, P., Davidsen, M., Binder, V., (1994) Course of Ulcerative Colitis: Analysis of Changes in Disease Activity over Years. *Gastroenterology*, 107(1), 3-11.
- Lewis, N. D., Asim, M., Barry, D. P., Singh, K., de Sablet, T., Boucher, J.-L., Gobert, A. P., Chaturvedi, R., Wilson, K. T., (2010) Arginase II Restricts Host Defense to *Helicobacter pylori* by Attenuating Inducible Nitric Oxide Synthase Translation in Macrophages. *The Journal of Immunology*, 184(5), 2572-2582.
- Li, H., Leo, C., Schroen, D. J., Chen, J. D., (1997) Characterization of Receptor Interaction and Transcriptional Repression by the Corepressor SMRT. *Molecular Endocrinology*, 11(13), 2025-2037.
- Li, P., Fan, W., Xu, J., Lu, M., Yamamoto, H., Auwerx, J., Sears, D. D., Talukdar, S., Oh, D., Chen, A., Bandyopadhyay, G., Scadeng, M., Ofrecio, J. M., Nalbandian, S., Olefsky, J. M., (2011) Adipocyte NCoR Knockout Decreases PPAR γ Phosphorylation and Enhances PPAR γ Activity and Insulin Sensitivity. *Cell*, 147(4), 815-826.
- Litvak, Y., Byndloss, M. X., Bäumlér, A. J., (2018) Colonocyte Metabolism Shapes the Gut Microbiota. *Science*, 362(6418)

Liu, M., Wang, X., Wang, L., Ma, X., Gong, Z., Zhang, S., Li, Y., (2018) Targeting the IDO1 Pathway in Cancer: From Bench to Bedside. *Journal of Hematology and Oncology*, 11(1), 1-12.

López-Díaz, L., Jain, R. N., Keeley, T. M., VanDussen, K. L., Brunkan, C. S., Gumucio, D. L., Samuelson, L. C., (2007) Intestinal Neurogenin 3 Directs Differentiation of a Bipotential Secretory Progenitor to Endocrine Cell Rather than Goblet Cell Fate. *Developmental Biology*, 309(2), 298-305.

Macdonald, T. T., (1994) Gastrointestinal Inflammation: Inflammatory bowel disease in knockout mice. *Current Biology*, 4(3), 261-263.

Madison, B., Dunbar, L., Qiao, X. T., Braunstein, K., Braunsteins, E., Gumucio, D. L., (2002) Cis Elements of the Villin Gene Control Expression in Restricted Domains of the Vertical (Crypt) and Horizontal (Duodenum, Cecum) Axes of the Intestine. *Journal of Biological Chemistry*, 277(36), 33275-33283.

Maloy, K. J., Powrie, F., (2011) Intestinal Homeostasis and Its Breakdown in Inflammatory Bowel Disease. *Nature*, 474(7351), 298-306.

Marathe, C., Bradley, M. N., Hong, C., Lopez, F., Ruiz de Galarreta, C. M., Tontonoz, P., Castrillo, A., (2006) The Arginase II Gene Is an Anti-Inflammatory Target of Liver X Receptor in Macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, 281(43), 32197-32206.

Mashimo, H., Wu, D. C., Podolsky, D. K., Fishman, M. C., (1996) Impaired Defense of Intestinal Mucosa in Mice Lacking Intestinal Trefoil Factor. *Science*, 274(5285), 262-265.

Mellor, A. L., Munn, D. H., (2004) IDO1 Expression by Dendritic Cells : Tolerance and Tryptophan Catabolism. *Nature Reviews Immunology*, 4(10), 762-774.

Mennillo, E., Yang, X., Paszek, M., Auwerx, J., Benner, C. W., Chen, S., (2020) NCoR1 Protects Mice From Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis by Guarding Colonic Crypt Cells From Luminal Insult. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 10(1), 133-147.

Molinié, F. M., Gower-Rousseau, C., Yzet, T., Merle, V., Grandbastien, B., Marti, R., Lerebours, E., Dupas, J.-L., Colombel, J.-F., Salomez, J.-L., Cortot, A., (2014) Opposite evolution in incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Northern France (1988-1999). *Gut*, 53(6), 843-848.

Mori, M., (2007) Regulation of Nitric Oxide Synthesis and Apoptosis by Arginase and Arginine Recycling. *Journal of Nutrition*, 137(6), 3-7.

Mowat, A. M., Agace, W. W., (2014) Regional Specialization within the Intestinal Immune System. *Nature Reviews Immunology*, 14(10), 667-683.

- Munn, D. H., Zhou, M., Attwood, J. T., Bondarev, I., Conway, S. J., Marshall, B., Brown, C., Mellor, A. L., (1998) Prevention of Allogenic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science*, 281, 1191-1193.
- Nautiyal, J., Christian, M., Parker, M. G., (2013) Distinct Functions for RIP140 in Development, Inflammation, and Metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24(9), 451-459.
- Nava, P., Capaldo, C. T., Koch, S., Kolegraff, K., Rankin, C. R., Farkas, A. E., Feasel, M E., Li, L., Addis, C., Parkos, C., Nusrat, A., (2011) JAM-A regulates epithelial proliferation through Akt/ β -catenin signaling. *EMBO Reports*, 12(4), 314-320.
- Nguyen, N., Bonzo, J. A., Chen, S., Chouinard, S., Kelner, M. J., Hardiman, G., Bélanger, A., Tukey, R. H., (2008), Disruption of the Ugt1 Locus in Mice Resembles Human Crigler-Najjar Type 1 Disease. *Journal of Biological Chemistry*, 283(12), 7901-7911.
- Nikolaus, S., Schulte, B., Al-Massad, N., Thieme, F., Schulte, D. M., Bethge, J., Rehman, A., Tran, F., Aden, K., Häslér, R., Mol, N., Schütze, G., Schwarz, M. J., Waetzig, G. H., Rosenstiel, P., Krawcaxak, M., Szymczak, S., Schreiber, S., (2017) Increased Tryptophan Metabolism Is Associated With Activity of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*, 153(6), 1504-1516.e2.
- Noah, T. K., Donahue, B., Shroyer, N. F., (2011) Intestinal Development and Differentiation. *Experimental Cell Research*, 317(19), 2701-2710.
- Oberoi, J., Fairall, L., Watson, P. J., Yang, J. C., Czimmerer, Z., Kampmann, T., Goult, B. T., Greenwood, J. A., Gooch, J. T., Kallengerger, B. C., Nagy, L., Neuhaus, D. N., Schwabe, J. W. R., (2011) Structural Basis for the Assembly of the SMRT/NCOR Core Transcriptional Repression Machinery. *Nature Structural and Molecular Biology*, 18(2), 177-185.
- Oehlers, S. H., Flores, M. V., Hall, C. J., Crosier, K. E., Crosier, P. S., (2012) Retinoic acid suppresses intestinal mucus production and exacerbates experimental enterocolitis. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 5(4), 457-467.
- Oh, S. K., Kim, D., Kim, K., Boo, K., Yu, Y. S., Kim, I. S., Jeon, Y., Im, S.-K., Lee, S.-H., Lee J. M., Ko, Y., Lee, H., Park, D., Fang, S., Baek, S. H., (2019) ROR α is crucial for attenuated inflammatory response to maintain intestinal homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(42), 21140-21149.
- Okayasu, I., Hatakeyama, S., Yamad, M., Ohkusa, T., Inagaki, Y., Nakaya, R., (1990) A Novel Method in the Induction of Reliable Experimental Acute and Chronic Ulcerative Colitis in Mice. *Gastroenterology*, 98(3), 694-702.

- Pascual, G., Fong, A. L., Ogawa, S., Gamliel, A., Li, A. C., Perissi, V., Rose, D. W., Willson, T. M., Rosenfeld, M. G., Glass, C. K., (2005) A SUMOylation-Dependent Pathway Mediates Transrepression of Inflammatory Response Genes by PPAR- γ . *Nature*, 437(7059), 759-763.
- Perissi, V., Aggarwal, A., Glass, G. K., Rose, D. W., Rosenfeld, M. G., (2004) A Corepressor/Coactivator Exchange Complex Required for Transcriptional Activation by Nuclear Receptors and Other Regulated Transcription Factors. *Cell*, 116(4), 511-526.
- Perissi, V., Jepsen, K., Glass, C. K., Rosenfeld, M. G., (2010) Deconstructing Repression: Evolving models of Co-Repressor Action. *Nature Reviews Genetics*, 11(2), 109-123.
- Petersson, J., Phillipson, M., Jansson, E. Å., Patzak, A., Lundberg, J. O., Holm, L., (2007) Dietary nitrate increases gastric mucosal blood flow and mucosal defense. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 297(3), G718-G724.
- Pillai, R. B., Tolia, V., Rabah, R., Simpson, P. M., Vijesurier, R., Lin, C. H., (1999) Increased colonic ornithine decarboxylase activity in inflammatory bowel disease in children. *Digestive Diseases and Sciences*, 44(8), 1565-1570.
- Qin, X., (2017) Damage of the Mucus Layer: The Possible Shared Critical Common Cause for Both Inflammatory Bowel Diseases (IBD) and Irritable Bowel Syndrome (IBS). *Inflammatory Bowel Diseases*, 23(2), E11-12.
- Rieder, F., Brenmoehl, J., Lebb, S., Schölmerich, J., Rogler, G., (2007) Wound healing and fibrosis in intestinal disease. *Gut*, 56(1), 130-139.
- Rieder, F., Fiocchi, C., (2009) Intestinal Fibrosis in IBD - A Dynamic, Multifactorial Process. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 6(4), 228-235.
- Rosell, M., Jones, M. C., Parker, M. G., (2011) Role of Nuclear Receptor Corepressor RIP140 in Metabolic Syndrome. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1812(8), 919-928.
- Rothenberg, M. E., Nusse, Y., Kalisky, T., Lee, J. J., Dalerba, P., Scheeren, F., Lobo, N., Kulkarni, S., Sim, S., Qian, D., Beachy, P. A., Pasricha, P. J., Quake, S. R., Clarke, M. F., (2012) Identification of a CKIT⁺ Colonic Crypt Base Secretory Cell That Supports Lgr5⁺ Stem Cells in Mice. *Gastroenterology*, 142(5), 1196-1205.e.6.
- Saleiro, D., Murillo, G., Benya, R. V., Bissonnette, M., Hart, J., Mehta, R. G., (2012) Estrogen receptor- β protects against colitis-associated neoplasia in mice. *International Journal of Cancer*, 131(11), 2553-2561.
- Sanderson, S. M., Gao, X., Dai, Z., Locasale, J. W., (2019) Methionine Metabolism in Health and Cancer: A Nexus of Diet and Precision Medicine. *Nature Reviews Cancer*, 19(11), 625-637.

- Sasaki, N., Sach N., Wiebrands, K., Ellenbroek, S. I. J., Fumagalli, A., Lyubimova, A., Begthel, H., van den Born, M., van Es, J. H., Karthaus, W. R., Li, V. S. W., López-Iglesias, C., Peters, P. J., van Rheenen, J., van Oudenaarden, A., Clevers, H., (2016) Reg4⁺ deep crypt secretory cells function as epithelial niche for Lgr5⁺ stem cells in colon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(37), E5399-5407.
- Schnyder, S., Kurp, B., Handschin, C., (2017) Coregulator-Mediated Control of Skeletal Muscle Plasticity– A Mini-Review. *Biochimie*, 136, 49-54.
- Schonhoff, S. E., Giel-Moloney, M., Leiter, A. B., (2004) Minireview : Development and Differentiation of Gut Endocrine Cells. *Endocrinology*, 145(6), 2639-2644.
- Shah, Y. M., Ma, X., Morimura, K., Kim, I., Gonzalez, F. J., (2007) Pregnane X Receptor activation ameliorates DSS-induced inflammatory bowel disease via inhibition of NF-κB target gene expression. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(4), 1114-1122.
- Shaulian, E., Karin, M., (2002) AP-1 as a Regulator of Cell Life and Death. *Nature Cell Biology*, 4(5), E131-136.
- Shie, J. L., Chen, Z. Y., Fu, M., Pestell, R. G., Tseng, C. C., (2000) Gut-enriched Krüppel-like factor represses cyclin D1 promoter activity through Sp1 motif. *Nucleic acids research*, 28(15), 2969-2976.
- Shie, J. L., Chen, Z. Y., O'Brien, M. J., Pestell, R. G., Lee, M. E., Tseng, C. C., (2000) Role of gut-enriched Krüppel-like factor in colonic cell growth and differentiation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279(4), G806-G814.
- Shin, C. H., Choi, D.-S., (2019) Essential Roles for the Non-canonical IκB Kinases in Linking Inflammation to Cancer, Obesity, and Diabetes. *Cells*, 8(2), 178, 1-20.
- Shon, W. J., Lee, Y. K., Shin, J. H., Choi, E. Y., Shin, D. M., (2015) Severity of DSS-Induced Colitis Is Reduced in Ido1-Deficient Mice with down-Regulation of TLR-MyD88-NF-KB Transcriptional Networks. *Scientific Reports*, 5(April), 1-12.
- Shoshkes-Carmel, M., Wang, Y. J., Wangenstein, K. J., Tóth, B.m Kondo, A., Massassa E. E., Itzkovitz, S., Kaestner, K. H., (2018) Subepithelial Telocytes Are an Important Source of Wnts That Supports Intestinal Crypts. *Nature*, 557(7704), 242-246.
- Singh, K., Coburn, L. A., Barry, D., Boucher J.-L., Chaturvedi, R., Wilson, K. T., (2012) L-arginine uptake by cationic amino acid transporter 2 is essential for colonic epithelial cell restitution. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(9), 1061-1073.

Smith, S. A., et Pogson, C. I., (1980) The metabolism of L-tryptophan by isolated rat liver cells. Effect of albumin binding and amino acid competition on oxidation of tryptophan by tryptophan 2,3-dioxygenase. *Biochemical Journal*, 186(3), 977-986.

Sofia, M. A., Corba, M. A., Meckel, K., Kim, C. K., Guillemin, G. J., Weber, C. R., Bissonnette, M., Pekow, J. F., (2018) Tryptophan Metabolism through the Kynurenine Pathway is Associated with Endoscopic Inflammation in Ulcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 24(7), 1471-1480.

Specia, S., Rousseaux, C., Dubuquoy, C., Rieder, F., Vetusch, A., Sferra, R., Giusti, I., Bertin, B., Dubuquoy, L., Gaudio, E., Desreumaux, P., Latella, G., (2016) Novel PPAR γ Modulator GED-0507-34 Levo Ameliorates Inflammation-driven Intestinal Fibrosis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(2), 279-292.

Spiegelman, B. M., (1998) PPAR- γ : Adipogenic Regulator and Thiazolidinedione Receptor. *Diabetes*, 47(4), 504-514.

Strugala, V., Dettmar, P. W., Pearson, J. P., (2008) Thickness and Continuity of the Adherent Colonic Mucus Barrier in Active and Quiescent Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *The International Journal of Clinical Practice*, 62(5), 762-769.

Talavera, M. M., Nuthakki, S., Cui, H., Jin, Y., Liu, Y., Nelin, L. D., (2017) Immunostimulated Arginase II Expression in Intestinal Epithelial Cells Reduces Nitric Oxide Production and Apoptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 5 (mars), 1-10.

Te Velde, A. A., Verstege, M. I., Hommes, D. W., (2006) Critical appraisal of the current practice in murine TNBS-induced colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 12(10), 995-999.

Thiemann, S., Smit, N., Roy, U., Lesker, T. R., Gálvez, E. J. C., Helmecke, J., Basic, M., Bleich, A., Goodman, A. L., Kalinke, U., Flavell, R. A., Erhardt, M., Strowig, T., (2017) Enhancement of IFN- γ Production by Distinct Commensals Ameliorates *Salmonella*-Induced Disease. *Cell Host & Microbe*, 21(6), 682-694.e5.

Tukey, R.H., Strassburg, C. P., (2000) Human UDP-Glucuronosyltransferases : Metabolism, Expression, and Disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 40(1), 581-616.

Van der Sluis, M., De Koning, B. A. E., De Bruijn, A. C. J. M., Velcich, A., Meijerink, J. P. P., Van Goudoever, J. B., Büller, H. A., Dekker, J., Van Seuninger, I., Renner, I. B., Einerhand, A. W. C., (2006) Muc2-Deficient Mice Spontaneously Develop Colitis, Indicating That MUC2 Is Critical for Colonic Protection. *Gastroenterology*, 131(1), 117-129.

- Vavassori, P., Mancarelli, A., Renga, B., Distrutti, E., Fiorucci, S., (2009) The Bile Acid Receptor FXR Is a Modulator of Intestinal Innate Immunity. *The Journal of Immunology*, 183(10), 6251-6261.
- Varrecchia, F., et Mauviel, A., (2002) Transforming Growth Factor- β Signaling Through the Smad Pathway: Role in Extracellular Matrix Gene Expression and Regulation. *Journal of Investigative Dermatology*, 118(2), 211-215.
- Von Bubnoff, D., Scheler, M., Wilms, H., Fimmers, R., Bieber, T., (2011) Identification of IDO-Positive and IDO-Negative Human Dendritic Cells after Activation by Various Proinflammatory Stimuli. *The Journal of Immunology*, 186(12), 6701-6709.
- Wan, X., Liu, L., Zhou, P., Hui, X., He, Q., Yu, F., Zhang, W., Ding, X., Yuan, X., Zhang, N., Zhao, Y., Zhu, R., Liu, Y., Hao, P., Auwerx, J., Song, X., Leng, Q., Zhang, Y., (2019) The Nuclear Receptor Corepressor NCoR1 Regulates Hematopoieses and Leukemogenesis in Vivo. *Blood Advances*, 3(4), 644-657.
- Willson, T. M., Lambert, M. H., Kliewer, S. A., (2001) Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ and Metabolic Disease. *Annual Review of Biochemistry*, 70(1), 341-367.
- Wirtz, S., Popp, V., Kindermann, M., Gerlach, K., Weigmann, B., Fichtner-Feigl, S., Neurath, M. F., (2017) Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation. *Nature Protocols*, 12(7), 1295-1309.
- Wolf, A. M., Wolf, D., Rumpold, H., Moschen A. R., Kaser, A., Obrist, P., Fuchs, D., Brandacher, G., Winkler, C., Geboes, K., Rutgeerts, P., Tilg, H., (2004) Overexpression of Indoleamine 2,3-dioxygenase in Human Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Immunology*, 113(1), 47-55.
- Wu, H. M., Wei, J., Wang, K., Qi, Y., Wang, F. Y., (2018) Mucus Protectors : Promising Therapeutic Strategies for Inflammatory Bowel Disease. *Medical Hypotheses*, 120(305), 55-59.
- Xie, W., Barwick, J. L., Downes, M., Blumberg, B., Simon, C. M., Nelson, M. C., Neuschwander-Tetri, B. A., Brunt, E. M., Guzelian, P. S., Evans, R. M., (2000) Humanized Xenobiotic Response in Mice Expressing Nuclear Receptor SXR. *Nature*, 406(6794), 435-439.
- Xie, W., Yeuh, M. F., Radominska-Pandya, A., Saini, S. P. S., Negishi, Y., Bottroff, B. S., Cabrere, G. Y., Tukey, R. H., Evans, R. M., (2003) Control of Steroid, Heme, and Carcinogen Metabolism by Nuclear Pregnane X Receptor and Constitutive Androstane Receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(7), 4150-4155.
- Yamamoto, H., Williams, E. G., Mouchiroud, L., Cantó, C., Fan, W., Downes, M., Héligon, C., Barich, G. D., Desvergne, B., Evans, R. M., Schoonjans, K., Auwerx, J., (2011) NCoR1

Is a Conserved Physiological Modulator of Muscle Mass and Oxidative Function. *Cell*, 147(4), 827-839.

Yang, Q., Bermingham, N. A., Finegold, M. J., Zoghbi, H. Z., (2001) Requirement of *Math1* for Secretory Cell Lineage Commitment in the Mouse Intestine. *Science*, 294(5549), 2155-2158.

Yeug, M. W. S., Terentid, A. C., King, N. J. C., Thomas, S. R., (2015) Role of Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Health and Disease. *Clinical Science*, 129(7), 601-672.

Yoon, H. G., Chan, D. W., Huang, Z. Q., Li, J., Fondell, J. D., Qin, J., Wong, J., (2003) Purification and Functional Characterization of Human N-CoR Complex : The Roles of HDAC3, TBL1 and TBLR1. *The EMBO Journal*, 22(6), 1336-1346.

You, S. H., Lim, H. W., Sun, Z., Broache, M., Won, K. J., Laza, M. A., (2013) Nuclear-Receptor Co-Repressors Are Required for the Histone-Deacetylase Activity of HADAC3 in Vivo. *Nature Structural and Molecular Biology*, 20(2), 182-187.

Yu, J., Li, Y., Ishizuka, T., Guenther, M. G., Lazar, M. A., (2003) A SANT Motif in the SMRT Corepressor Interprets the Histone Code and Promotes Histone Deacetylation. *The EMBO Journal*, 22(13), 3403-3410.

Yueh, M. F., Huang, Y. H., Hiller, A., Chen, S., Nguyen, N., Tukey, R. H., (2003) Involvement of the Xenobiotic Response Element (XRE) in Ah Receptor-Mediated Induction of Human UDP-Glucuronosyltransferase 1A1. *Journal of Biological Chemistry*, 278(27), 15001-15006.

Zhang, J., Kalkum, M., Chait, B. T., Roeder, R. G., (2002) The N-CoR-HDAC3 Nuclear Receptor Corepressor Complex Inhibits the JNK-Pathway through the Integral Subunit GPS2. *Molecular Cell*, 9(3), 611-623.

Zhang, W., Geiman, D. E., Shields, J. M., Dang, D. T., Mahatan, C. S., Kaestner, K. H., Biggs, J. R., Kraft, A. S., Yang, VW., (2000) The Gut-enriched Krüppel-like Factor (Krüppel-like Factor 4) Mediates the Transactivating Effect of p53 on the p21^{WAF/Cip1} Promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 275(24), 18391-18398.

Zhou, L., Chen, H., Wen, Q., Zhang, Y., (2012) Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Human Inflammatory Bowel Disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 24(6), 695-701.

ANNEXES

Figures supplémentaires

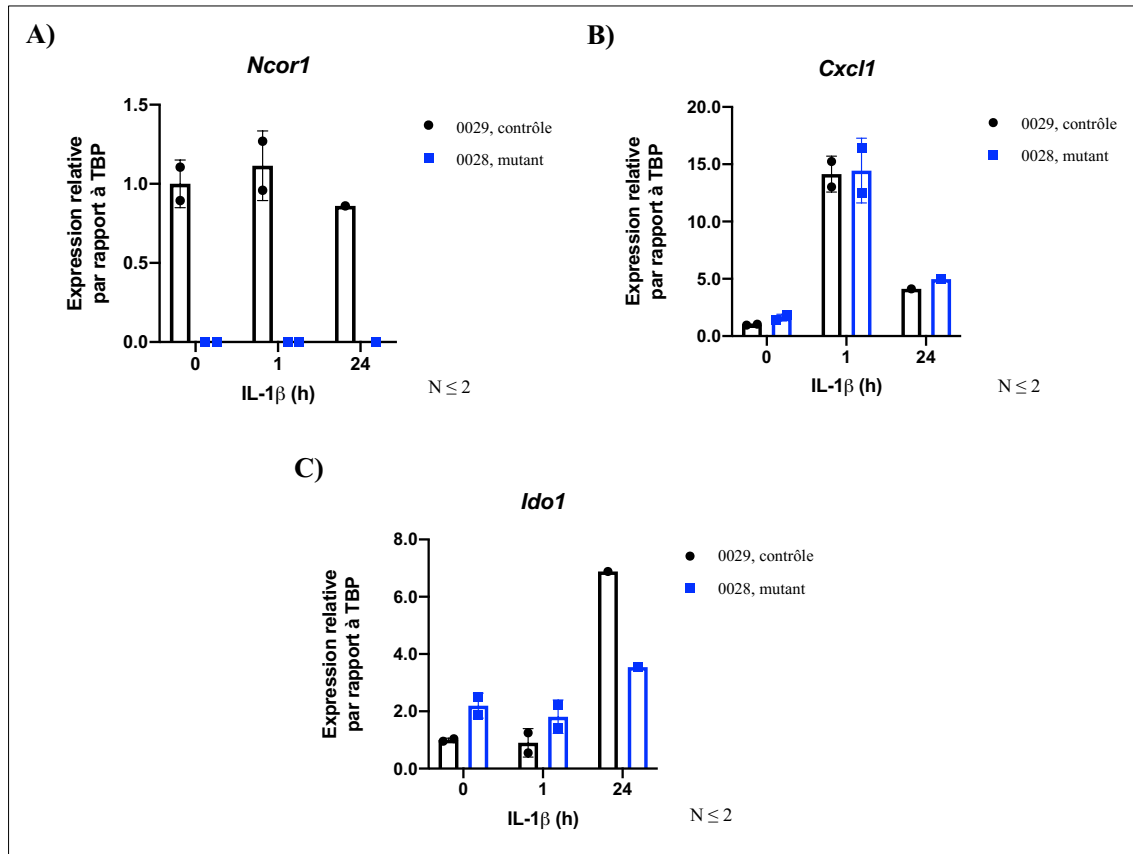


Figure 17 : La perte de *Ncor1* suggère une augmentation de l'expression des transcrits de *Idol* en début de stimulation à l'IL-1 β dans les colonoïdes. Analyses par qPCR de l'expression des transcrits des gènes *Ncor1* (A), *Cxcl1* (B) et *Idol* (C) pendant une cinétique de stimulation à l'IL-1 β à une concentration de 20 ng/ml. Les niveaux d'expression des transcrits de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été utilisés comme référence.

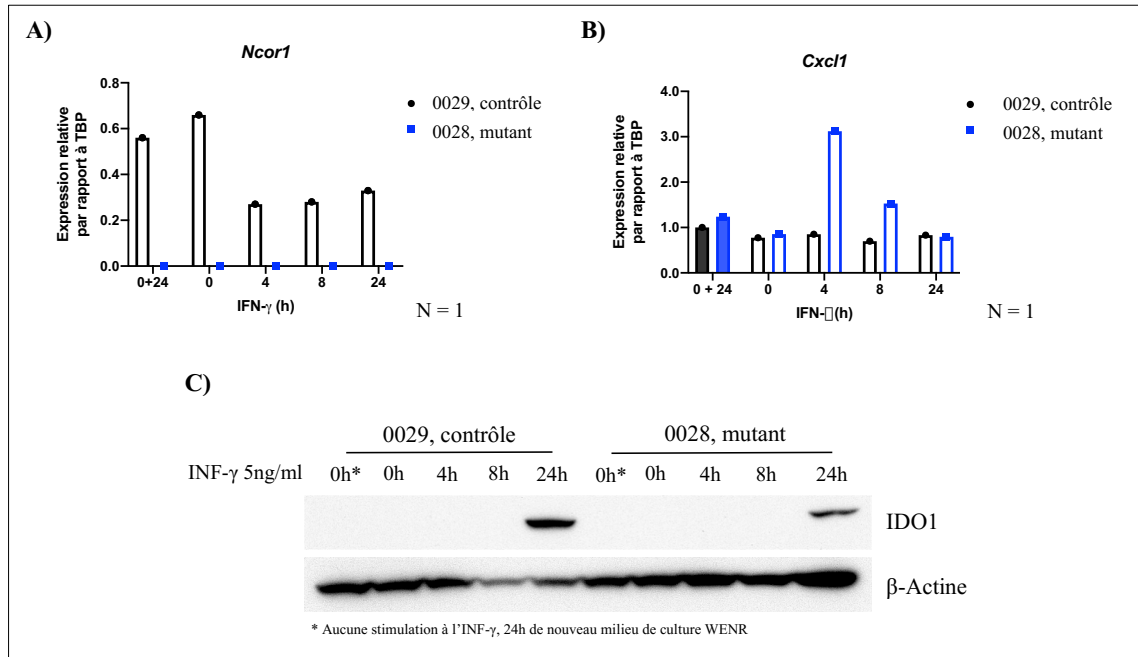


Figure 18 : La perte de *Ncor1* influence l'expression de *Ido1* dans un épithélium isolé lors d'une stimulation à l'INF- γ . Analyses qPCR de l'expression des transcrits des gènes de *Ncor1* (A) et *Cxcl1* (B). Les niveaux d'expression des transcrits de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été utilisés comme référence. C) Immunobuvardage réalisé dans les colonoïdes contrôles (0029) et *Ncor1* ^{Δ CEI} (0028) lors d'une cinétique inflammatoire à des temps de 0h, 4h, 8h et 24h à l'INF- γ (5ng/ml). Un anticorps anti-IDO1 a été utilisé pour la détection de la protéine et un second anticorps dirigé contre la β -Actine a été utilisé pour mesurer les niveaux relatifs de protéines déposées sur chaque gel.

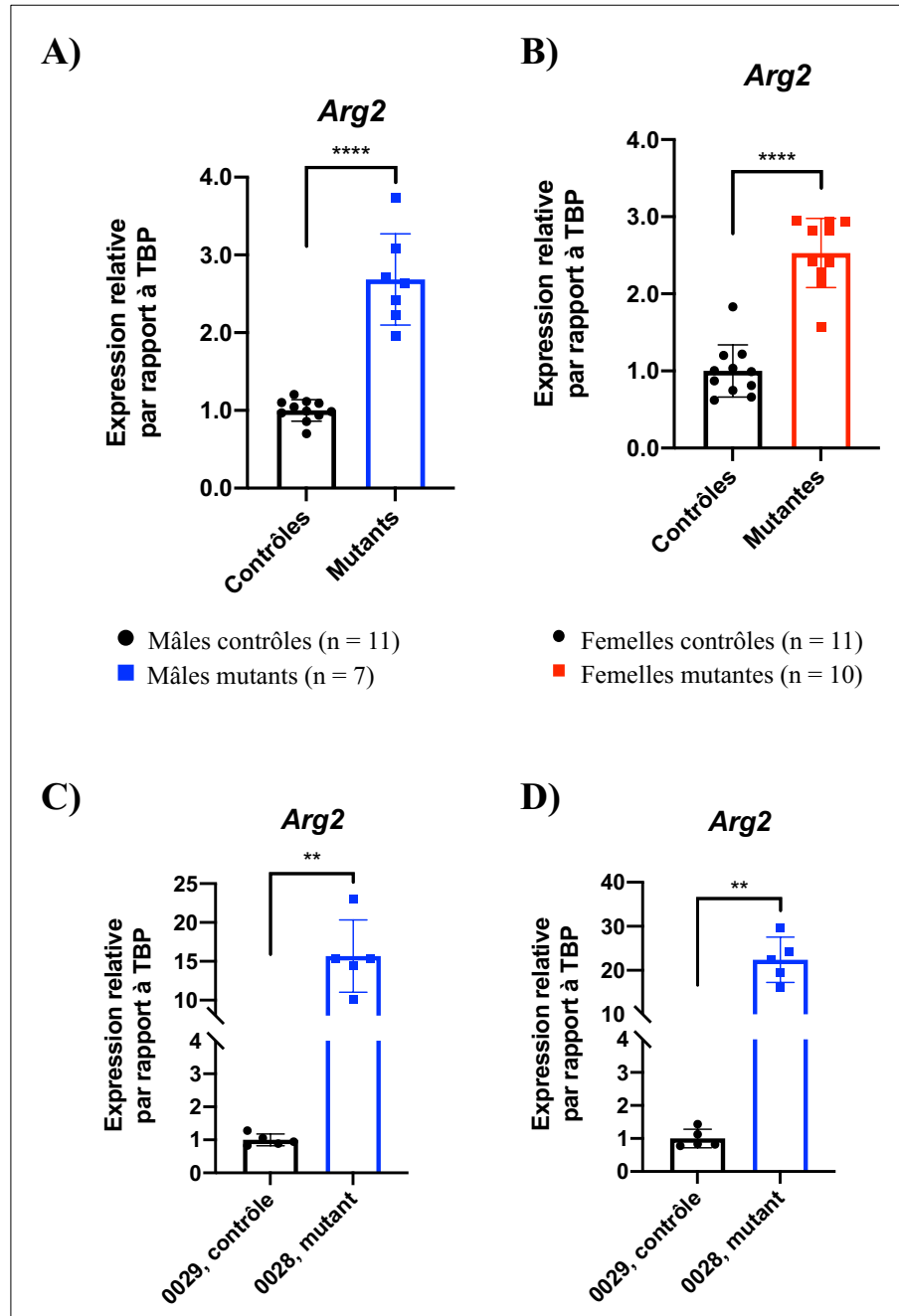


Figure 19 : La perte de *Ncor1* entraîne une induction des transcrits du gène *Arg2* chez les animaux *Ncor1*^{ACEI} au terme de la colite chronique et dans un épithélium isolé en culture *ex vivo*. Analyses qPCR de l'expression des transcrits du gène *Arg2* chez les souris mâles (A) et femelles (B) au terme du traitement chronique au DSS et chez les colonoïdes contrôles et mutants 3 jours (C) et 6 jours (D) post-passage en conditions non-traitées. Les niveaux d'expression des transcrits de « *Tata-box-binding protein* (TBP) » ont été utilisés comme référence.

Tableaux supplémentaires

Tableau 7 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures *ex vivo* de colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ΔCE1} à 3 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3).

Symbole du gène	Induction	P-value
Gm27817	87,4	1,38E-02
Cd164l2	73,5	1,52E-02
Gm10451	69,4	1,12E-03
Ces1d	67,9	2,46E-02
Rps18-ps6	51,1	2,42E-03
Rps18-ps5	44,4	1,07E-02
Sgk3	44,2	3,75E-06
Krt13	43,1	7,40E-03
Hoxa13	35,4	1,53E-05
Hoxa11os	28,2	2,45E-05
Gm8909	28,1	1,23E-02
H2-Q4	25,0	1,27E-03
Ces1e	22,3	1,87E-03
Ces1f	20,6	3,06E-02
Cdo1	19,4	2,91E-03
Padi2	18,5	5,54E-03
Gm44313	18,4	9,75E-03
Arg2	17,3	8,02E-04
Dusp22	17,1	1,62E-03
Gm27454	16,2	8,58E-03
Cldn8	15,5	5,38E-03
Cpm	14,5	2,33E-02
Gm11127	14,1	7,48E-05
Efna2	14,1	7,00E-03
Slc26a3	13,7	1,61E-02
H2-DMb1	13,4	3,01E-02
Adora2b	13,3	2,58E-02
Hoxa10	12,5	1,50E-04
Hoxa9	12,3	4,35E-04
Itga5	11,5	2,34E-06
H2-Q7	10,8	3,56E-03

Fgl1	10,6	1,12E-02
Bnip3	10,4	5,77E-03
Sardh	9,9	3,32E-02
Gstm7	9,8	1,60E-02
Gsdmc	9,0	2,49E-02
Ces1g	9,0	3,45E-02
Adh1	8,8	4,05E-03
Ctse	8,8	3,05E-02
Gsdmc4	8,4	2,35E-02
B3galt5	8,1	3,45E-03
Mgmt	8,0	1,10E-03
P4ha2	8,0	4,47E-05
Gstm6	7,9	3,29E-03
Gatm.b	7,9	1,23E-02
Gatm	7,9	1,23E-02
Urah	7,7	1,36E-02
Dmbt1	7,7	1,32E-04
Tsga10	7,6	1,53E-03
Sult1a1	6,7	6,25E-05
Igtp	6,1	1,52E-02
Nrep	6,1	2,18E-02
Acot1	5,9	1,93E-02
Nefh	5,5	4,81E-02
Lpcat2	5,1	1,05E-02
Irgm2	5,0	3,14E-02
Fcgrt	4,9	5,12E-07
Mapre3	4,7	1,33E-03
Aldoc	4,7	3,04E-04
Cyp2d26	4,7	7,87E-03
Msrb2	4,7	1,04E-04
Acot2	4,7	1,28E-05
Gstm5	4,6	4,96E-04
Chgb	4,6	4,87E-06
Kank3	4,4	8,63E-03
Pfkm	4,4	1,57E-03
Ifi27	4,3	9,09E-03
Cers4	4,3	1,23E-02
Hmgcs2	4,3	1,09E-03
Prpf40b	4,3	1,28E-02

H2-Q1	4,3	8,93E-03
Cbr2	4,2	2,77E-02
Ada	4,1	2,79E-04
Ugt2b5	3,9	3,07E-02
Mttp	3,9	5,36E-03
Gstt1	3,9	1,31E-02
Fam174b	3,9	9,77E-04
Adhfe1	3,9	2,14E-03
Tmem218	3,9	6,30E-04
H2-Q10	3,9	8,32E-03
P4ha1	3,8	1,48E-03
Ctsf	3,8	4,60E-03
Ccl5	3,8	2,99E-02
Gm2a	3,7	1,69E-03
Slc35f2	3,7	4,92E-02
Smim24	3,7	1,22E-02
Plod1	3,7	5,98E-05
Prss16	3,7	4,78E-04
Ces2g	3,6	1,50E-02
Khk	3,6	3,56E-04
Fgf15	3,6	1,46E-03
Cyp2d10	3,6	1,08E-02
Gm43672	3,6	9,82E-04
Iyd	3,6	6,98E-03
Ldlrad3	3,6	1,37E-03
Angptl6	3,5	1,94E-03
Lrrc8e	3,5	7,60E-04
Neurog3	3,5	1,39E-02
Mfge8	3,5	4,64E-03
Cox7a1	3,5	4,86E-03
Aldh6a1	3,5	3,43E-04
Slc46a1	3,5	9,16E-04
Pigr	3,5	7,97E-04
Psmb9	3,5	3,00E-03
Ndrp2	3,4	9,60E-03
Slc2a6	3,4	3,66E-02
Tmem53	3,4	4,58E-03
Cav1	3,4	1,94E-02
Steap4	3,3	1,96E-02

1810065E05Rik	3,3	2,01E-03
Bglap3	3,3	2,13E-03
Pld3	3,3	1,19E-04
H2ac19	3,3	4,82E-02
Dbp	3,2	1,89E-04
Hagh	3,2	1,44E-04
Cd320	3,2	2,49E-04
Egln3	3,2	2,90E-03
H2aw	3,2	4,66E-03
Hao2	3,2	4,05E-02
Cyp2d9	3,2	2,11E-02
Inpp4a	3,2	2,76E-03
Tppp	3,2	3,18E-03
Fcna	3,2	1,37E-02
Rab8b	3,2	4,29E-04
Pecr	3,1	4,51E-04
Vav3	3,1	2,88E-02
Glul	3,1	2,02E-02
Ttll1	3,1	3,53E-04
Dnajb4	3,1	5,54E-05
Ndrgl	3,1	2,63E-03
Gstm3	3,1	3,21E-02
Ugt1a7c	3,0	6,26E-03
Lrpap1	3,0	5,95E-03
Ctsl	3,0	6,99E-04
Enpp5	3,0	1,89E-03
Ecm1	3,0	9,24E-03
Ahcyl2	3,0	2,13E-02
Lgmn	2,9	7,03E-03
H2-DMa	2,9	8,53E-03
Mtx3	2,9	2,85E-03
Fmo1	2,9	1,18E-04
Psmb8	2,9	1,12E-02
Ccdc126	2,9	4,12E-03
Gng10	2,8	1,64E-03
Bbs2	2,8	2,04E-03
Tlr1	2,8	1,80E-02
Zfp467	2,8	8,09E-03
Il11ra1	2,8	1,02E-04

Tstd1	2,8	9,09E-03
Galk1	2,8	8,14E-03
Ugt1a6a	2,8	1,80E-02
Gm11496	2,8	1,32E-03
Bst2	2,7	1,13E-02
Hsd12	2,7	1,69E-03
Hif1a	2,7	2,86E-03
Dusp23	2,7	2,49E-03
Rad9b	2,7	1,82E-02
Higd1a	2,7	4,57E-03
Pde9a	2,7	1,76E-03
Slc9a2	2,7	5,68E-03
Fggy	2,7	8,39E-03
Chchd6	2,7	6,83E-04
Mgat4c	2,7	1,23E-03
Acadv1	2,7	2,61E-04
Acad10	2,7	2,17E-02
Oit1	2,6	1,39E-02
Upp1	2,6	7,63E-03
Mt1	2,6	2,28E-02
Trim44	2,6	2,06E-03
Irf9	2,6	2,75E-02
Fam13a	2,6	4,90E-03
Pacsin3	2,6	6,97E-03
H2ac18	2,6	2,51E-03
Ero1l	2,6	2,25E-02
Blvrb	2,6	1,51E-02
Tspan6	2,6	1,47E-03
Dcxr	2,6	1,08E-03
Nr1d1	2,6	3,00E-03
Trp53i13	2,6	1,03E-02
Fam114a1	2,6	6,37E-04
Coq8a	2,5	2,89E-03
Egfl7	2,5	7,26E-03
Tha1	2,5	2,75E-03
Prnp	2,5	2,19E-03
Gpt	2,5	2,01E-03
Slc25a20	2,5	1,01E-04
Pla2g10	2,5	5,53E-03

Hspa2	2,5	2,24E-05
Nucb2	2,5	1,09E-03
Sgk1	2,5	6,64E-03
Bsg	2,5	4,58E-04
H1f2	2,5	1,80E-02
Zfp612	2,5	1,67E-03
Sdr42e1	2,5	9,88E-03
Tcn2	2,5	3,94E-03
Aldh1a7	2,5	4,58E-03
Dusp1	2,5	2,28E-02
Lipg	2,5	3,26E-03
Ak4	2,5	3,00E-02
Pkig	2,5	2,35E-03
Abhd6	2,5	1,90E-03
Pycr1	2,5	2,74E-02
Glod5	2,4	6,86E-03
Tap2	2,4	3,11E-05
Lrrc51	2,4	1,34E-03
Slc4a7	2,4	1,34E-04
Car2	2,4	6,42E-04
Tc2n	2,4	5,68E-04
Papss2	2,4	3,81E-03
Ncoa7	2,4	2,40E-02
Gadd45g	2,4	8,63E-03
Tpd52l1	2,4	5,07E-03
Fkbp11	2,4	2,01E-02
Vkorc1	2,4	1,44E-03
Rasd1	2,4	2,15E-02
Gmfg	2,4	1,80E-04
Ldhd	2,4	4,91E-03
Ociad2	2,4	1,64E-03
Mpv17l	2,4	2,82E-03
Dnajc28	2,4	3,08E-03
Fgfbp1	2,4	7,73E-03
B230118H07Rik	2,4	3,01E-03
Gm49701	2,3	2,21E-03
Zgl6	2,3	7,06E-03
Ppp1r3b	2,3	2,44E-02
Gm8797	2,3	4,66E-04

Hivep3	2,3	1,64E-02
Isoc2b	2,3	6,25E-03
Me2	2,3	3,18E-03
Gstm4	2,3	1,44E-03
Cela1	2,3	1,08E-02
Mboat2	2,3	7,42E-03
Sfxn5	2,3	1,49E-03
4931406C07Rik	2,3	3,67E-05
Ces2c	2,3	1,13E-02
Arntl	2,3	3,39E-03
Zcwpw1	2,3	3,81E-02
Lrfr3	2,3	4,86E-03
Pttg1	2,3	1,71E-04
Cfap410	2,3	2,91E-04
Klk1	2,3	2,03E-02
Ddt	2,3	2,82E-03
Rhob	2,3	4,13E-03
Gm5617	2,3	3,08E-02
Sgcb	2,3	1,30E-03
Cmtm7	2,2	4,00E-02
Adam15	2,2	3,37E-03
Ces2e	2,2	8,10E-03
Slc30a10	2,2	2,09E-02
Ciart	2,2	8,31E-03
Hacl1	2,2	2,48E-03
Zhx3	2,2	1,10E-03
Ubxn11	2,2	6,90E-04
Prss36	2,2	2,52E-02
Clybl	2,2	2,56E-03
Clmn	2,2	3,99E-03
Mien1	2,2	2,33E-03
Ndfip1	2,2	3,15E-05
Tvp23b	2,2	9,05E-04
Slc5a1	2,2	1,22E-02
Tmem117	2,2	2,31E-03
Cpeb4	2,2	2,33E-03
Gne	2,2	2,62E-03
Vwa8	2,2	2,04E-03
Aga	2,1	1,82E-03

Fahd1	2,1	5,79E-04
Klf4	2,1	8,02E-03
Csnk1e	2,1	1,81E-03
Sdcbp2	2,1	2,17E-02
St6galnac4	2,1	1,05E-02
Rgs11	2,1	1,06E-02
Atg12	2,1	3,87E-03
Arhgap26.b	2,1	9,15E-04
Map1lc3a	2,1	1,51E-02
Lypd8	2,1	4,62E-02
Csad	2,1	5,81E-04
H2-M3	2,1	1,24E-02
Ly6g	2,1	1,68E-02
Trim45	2,1	7,95E-04
Gbe1	2,1	1,03E-02
Gm20300	2,1	4,62E-03
B3glct	2,1	3,79E-04
Rep15	2,1	4,46E-04
Tgoln1	2,1	7,63E-03
Tsc22d3	2,1	3,44E-04
Gm14207	2,1	4,57E-02
Sgip1	2,1	3,81E-03
Guca2a	2,1	1,30E-02
Tap1	2,0	1,35E-03
Csgalnact2	2,0	1,57E-02
Tcea2	2,0	1,07E-02
Rsu1	2,0	4,32E-04
Abat	2,0	4,90E-02
Parm1	2,0	6,09E-04
Galntl6	2,0	3,62E-03
Ugt2b34	2,0	3,78E-04
Nmrk1	2,0	7,09E-04
Slc5a6	2,0	8,57E-03
Tbl1xr1	2,0	1,02E-03
Zswim7	2,0	1,03E-03
Hcfc1r1	2,0	3,65E-03
Ccp1os	2,0	8,92E-03
Flywch2	2,0	2,28E-04
Rbm43	2,0	4,61E-03

Mif	2,0	2,88E-03
Il18	2,0	4,62E-02
Lyplal1	2,0	2,51E-02
Sirt3	2,0	4,88E-04
Grina	2,0	7,23E-04
Cstf2t	2,0	1,02E-02
Agk	2,0	8,15E-03
Xlr3a	2,0	4,69E-02
Smim8	2,0	4,15E-03
Tmem141	2,0	2,59E-02
Ihh	2,0	2,50E-02
Bmyc	2,0	9,89E-03
Pcgf5	2,0	5,34E-05
Atp6v0d1	2,0	9,57E-05
Oaz2	2,0	9,88E-04

Tableau 8 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures *ex vivo* de colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ΔCEI} à 3 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3).

Symbole du gène	Induction	P-value
Gm10451	69,4	5,22E-03
Rps18-ps6	63,5	3,59E-03
Gm27454	61,4	3,11E-02
Sgk3	61,1	9,68E-03
Ces1d	54,8	1,88E-02
Rps18-ps5	48,1	9,06E-03
Cdo1	46,6	1,32E-02
Gm27817	42,6	3,54E-03
Arg2	34,6	1,30E-02
Hoxa11os	30,9	7,01E-03
Gm8909	26,9	5,42E-04
Hoxa13	25,2	4,45E-05
Cd164l2	24,6	7,93E-03
Padi2	21,1	1,73E-02
Hoxa9	20,9	3,05E-05
H2-Q4	18,6	1,26E-03
Ces1e	18,0	1,61E-02
Hoxa10	17,9	4,82E-05
Gsdmc4	16,7	1,82E-02
Dusp22	15,6	2,34E-05
Scd1	14,1	2,93E-02
Gsdmc	13,6	1,73E-02
Bnip3	13,4	8,65E-03
B3galt5	13,2	3,47E-04
Dmbt1	12,8	5,84E-03
Gatm.b	12,7	3,26E-02
Gatm	12,7	3,26E-02
Ctse	12,4	3,40E-03
Gm11127	12,2	1,57E-02
Cpm	12,0	6,14E-03
Sardh	11,4	1,57E-03
Adora2b	11,3	1,06E-02
H2-Q7	10,5	8,37E-04

H2-DMb1	10,1	1,15E-02
Itga5	10,0	2,33E-03
Slc26a3	9,9	2,72E-02
Slc35f2	9,4	2,12E-02
Krt13	9,2	1,11E-02
Efna2	9,1	3,67E-03
Aldh1a7	7,5	9,03E-03
P4ha2	7,5	1,03E-03
Ugt2b5	6,8	4,21E-02
Cldn8	6,7	1,99E-03
Ifi2712a	6,6	6,09E-03
Mgmt	6,6	6,59E-05
Acot1	6,6	8,59E-03
Tsga10	6,5	4,65E-06
Ada	5,7	8,50E-04
Nupr11	5,6	2,44E-04
Adh1	5,5	2,64E-04
Gstm6	5,4	2,43E-07
Urah	5,4	1,25E-03
Cox7a1	5,4	3,89E-04
Gstm7	5,3	2,13E-02
Cbr2	5,3	2,76E-02
Adhfe1	5,2	1,23E-02
Gstm3	5,2	4,43E-02
H2-DMa	5,0	1,73E-02
Fgl1	4,9	2,06E-03
Mapre3	4,9	4,48E-04
Mt1	4,7	2,33E-04
Lpcat2	4,6	1,11E-03
Vav3	4,4	6,60E-03
P4ha1	4,4	1,82E-04
Nefh	4,4	3,00E-02
Hif1a	4,3	4,20E-03
H2-Q10	4,3	2,63E-03
Nrep	4,3	1,17E-02
Gm44484	4,2	2,63E-02
Gm44394	4,2	2,63E-02
Gm44486	4,2	2,63E-02
Gm44359	4,2	2,63E-02

Gm44367	4,2	2,63E-02
Gm44350	4,2	2,63E-02
Gm44314	4,2	2,63E-02
Gm19658	4,2	2,63E-02
Gm44466	4,2	2,63E-02
Gm27624	4,2	1,98E-02
Spon2	4,2	3,72E-03
Pfkm	4,1	4,14E-03
Tpd5211	4,1	1,66E-03
Gm15912	4,0	1,78E-02
Chgb	3,9	2,49E-02
Prss16	3,9	9,34E-05
Ugt1a6a	3,9	1,52E-03
Chchd6	3,8	1,05E-02
Egln3	3,8	8,44E-04
Dnajb4	3,8	1,14E-03
Phospho1	3,6	2,33E-04
Mpv17l	3,6	2,07E-02
Prpf40b	3,6	1,11E-04
Fabp5	3,6	2,44E-03
Acad10	3,5	1,21E-04
Galk1	3,5	1,44E-02
Gng10	3,5	7,11E-03
Tmem218	3,5	2,52E-05
Egfl7	3,5	1,30E-02
Ankrd37	3,4	2,11E-03
Mboat2	3,4	9,34E-03
Lrrc8e	3,4	9,66E-04
Ldlrad3	3,4	2,54E-04
Aldoc	3,4	1,43E-03
Inpp4a	3,4	5,75E-03
Dbp	3,4	1,20E-02
Papss2	3,3	1,65E-02
Hagh	3,3	1,34E-03
Mttp	3,3	5,22E-06
Iyd	3,2	8,99E-03
Erol1	3,2	3,65E-02
Pycr1	3,2	8,26E-03
Slc5a6	3,2	1,64E-03

Blvrb	3,2	1,60E-02
Taf9	3,2	1,67E-02
Fgfl5	3,1	1,03E-03
Cd320	3,1	5,31E-04
Tppp	3,1	1,38E-02
Nr1d1	3,1	4,69E-03
Gm2a	3,0	1,76E-03
Hsdl2	3,0	2,27E-03
Fcgrt	3,0	4,63E-03
Gstm5	3,0	5,23E-04
Gnpda1	3,0	3,54E-03
Tmem53	3,0	2,41E-03
Gm5617	2,9	6,51E-03
Mgat4c	2,9	1,55E-03
Hmgcs2	2,9	1,28E-03
Gm28625	2,9	4,65E-02
Aldh6a1	2,9	6,86E-03
Pcx	2,9	3,16E-03
Cers4	2,9	1,13E-02
Sdr42e1	2,9	2,22E-02
Acadv1	2,9	4,76E-03
Slc25a20	2,8	1,61E-02
Mfge8	2,8	2,47E-02
Bbs2	2,8	2,75E-03
Ahcyl2	2,8	4,06E-03
Fam174b	2,8	4,21E-03
Cmtm7	2,8	3,37E-02
Pkig	2,8	1,41E-03
Grhl1	2,8	5,34E-03
Gm4013	2,8	2,24E-03
Pigr	2,8	2,52E-04
Me2	2,8	1,87E-02
Ugt1a7c	2,8	7,76E-04
Gstt1	2,8	2,29E-02
Higd1a	2,8	1,24E-02
Rab8b	2,8	7,93E-04
Hacl1	2,8	2,46E-02
Gm36738	2,8	5,10E-03
Ccdc126	2,7	1,70E-03

Oit1	2,7	6,15E-03
Msrb2	2,7	9,73E-04
Pdk1	2,7	6,36E-04
Khk	2,7	7,56E-04
Ugt2b36	2,7	1,30E-02
Zhx3	2,7	6,91E-03
Mdm1	2,7	1,26E-02
Dusp23	2,7	6,03E-05
Slc9a2	2,7	1,33E-02
Slc4a7	2,7	5,65E-05
Gpt	2,7	1,44E-02
Fgfbp1	2,6	2,48E-02
Ldhd	2,6	1,43E-02
Lrpap1	2,6	9,78E-04
Ppp1r3b	2,6	1,25E-02
Pde9a	2,6	1,75E-04
Pecr	2,6	1,12E-02
Tstd1	2,6	3,16E-02
Bsg	2,6	4,50E-05
Trim36	2,5	1,40E-02
Ifi27	2,5	1,40E-04
Naaa	2,5	4,40E-04
Fcna	2,5	8,39E-03
Slc31a1	2,5	1,24E-02
Plod1	2,5	6,47E-03
Pcgf5	2,5	2,71E-03
Rogdi	2,5	4,39E-03
Ces2g	2,5	2,69E-02
Hspa2	2,4	5,04E-03
Cd68	2,4	2,32E-03
Mif	2,4	6,69E-03
Lyplal1	2,4	5,35E-03
Glod5	2,4	9,19E-03
Abhd6	2,4	7,34E-03
Yif1b	2,4	1,10E-02
Fam92a	2,4	9,45E-03
Srr	2,4	1,34E-02
Fads1	2,4	4,76E-02
Angptl6	2,4	6,17E-03

Gm43672	2,4	1,98E-02
Ak4	2,4	3,87E-02
Vwa8	2,4	1,70E-03
Ssbp4	2,4	1,89E-02
Hexb	2,3	6,99E-03
Enpp1	2,3	1,34E-03
Trim45	2,3	1,84E-03
Csad	2,3	2,79E-03
Boc	2,3	4,55E-03
Pld3	2,3	4,02E-03
Pacsin3	2,3	4,71E-03
Zswim7	2,3	1,15E-02
Ociad2	2,3	1,82E-04
Ces2c	2,3	4,16E-02
Gm20300	2,3	4,70E-03
Ecm1	2,3	8,18E-04
Mpp3	2,3	4,31E-02
Kyat1	2,3	6,78E-03
B230118H07Rik	2,3	2,33E-03
Camta1	2,3	7,17E-03
Ces2e	2,3	1,21E-02
Il11ra1	2,3	5,56E-03
Sdcbp2	2,3	1,33E-03
Fam114a1	2,3	6,57E-05
Dusp1	2,3	7,92E-03
Tbc1d31	2,3	4,84E-03
Sgcb	2,3	1,11E-02
Fkbp11	2,2	1,41E-03
H2ac18	2,2	3,98E-03
Prdm9	2,2	5,16E-03
Rad9b	2,2	1,72E-02
Ugt2b34	2,2	1,34E-02
Tha1	2,2	1,02E-03
Trp53i13	2,2	1,26E-02
Tex2	2,2	1,74E-02
Pex11a	2,2	1,81E-02
Entpd5	2,2	2,21E-02
Ndufa1	2,2	7,22E-04
Gstm4	2,2	6,20E-03

Lipg	2,2	4,49E-02
Cstf2t	2,2	1,11E-03
Ciart	2,2	2,17E-04
Fam162a	2,2	4,04E-03
Nfic	2,2	3,49E-03
Enpp5	2,2	1,27E-03
4931406C07Rik	2,2	1,65E-03
Clybl	2,2	3,65E-03
Ndrgl	2,2	8,73E-03
Gm11496	2,2	1,03E-02
Mogat2	2,2	9,97E-03
Lgmn	2,2	1,49E-03
Cyb5rl	2,2	2,63E-02
Kctd7	2,2	3,62E-03
Fam71e1	2,2	5,73E-03
Gm13421	2,2	5,93E-04
Dnajc28	2,1	3,24E-02
Etfb	2,1	7,19E-03
Pgk1	2,1	6,96E-03
Fam13a	2,1	7,32E-03
Greb1	2,1	4,21E-02
Isoc2b	2,1	4,30E-03
Aga	2,1	1,72E-02
Ndrg2	2,1	2,41E-03
Fggy	2,1	7,56E-03
9130024F11Rik	2,1	6,47E-03
Prss36	2,1	4,83E-03
Rwdd3	2,1	1,76E-02
Tcaf2	2,1	9,14E-03
Hivep3	2,1	5,48E-03
Slc30a10	2,1	3,93E-02
Fahd2a	2,1	3,58E-02
Sil1	2,1	4,80E-04
Entpd2	2,1	1,59E-02
Cpeb4	2,1	1,31E-02
Pcsk4	2,1	1,10E-02
Rpp40	2,1	2,26E-02
Foxd2os	2,1	9,97E-04
H1f0	2,1	3,57E-02

Atp8a1	2,1	2,30E-02
Gpcpd1	2,0	1,01E-02
Acta1	2,0	1,54E-02
Ugt1a1	2,0	6,32E-03
Tbllxr1	2,0	4,89E-03
Acss2	2,0	1,09E-02
Slc46a1	2,0	5,01E-03
Tubd1	2,0	4,04E-03
Srl	2,0	3,67E-03
Sfxn5	2,0	6,58E-03
Top1mt	2,0	1,99E-02
Exph5	2,0	6,04E-06
H2aw	2,0	2,80E-03
Amacr	2,0	1,08E-03
Ttll1	2,0	2,72E-03
Cdk5rap3	2,0	6,65E-04
Nmnat3	2,0	1,08E-03
St6galnac4	2,0	1,23E-02
Pgm1	2,0	1,18E-02
Pgm1.b	2,0	1,18E-02
Gm19605	2,0	8,11E-03
Asrgl1	2,0	2,93E-03
Apmmap	2,0	2,14E-04
Acs11	2,0	1,74E-03
Abcg2	2,0	3,62E-02
Gm10053	2,0	3,16E-02
Gapdh	2,0	7,84E-03
Cep57l1	2,0	4,92E-02
Pank3	2,0	2,64E-02
Lrfn3	2,0	7,31E-04
Ndufb11	2,0	1,82E-03
Tph1	2,0	1,68E-02
Cfr	2,0	1,99E-02
Septin2.b	2,0	2,62E-02
Gm8797	2,0	5,89E-04
2310009B15Rik	2,0	2,16E-03
Cmc2	2,0	1,52E-02
Asf1b	2,0	1,22E-02
Arntl	2,0	4,14E-04

Glul	2,0	9,87E-03
2610528A11Rik	2,0	2,35E-02

Tableau 9 : Gènes identifiés par le séquençage du transcriptome comme étant augmentés ou diminués plus de 2,0 fois et ayant une P-value < 0,05 dans les cultures *ex vivo* de colonoïdes provenant de souris *Ncor1*^{ΔCEI} à 3 jours et 6 jours post-passage. Les données ont été analysées par la plateforme RNomics de l'Université de Sherbrooke (n = 3 (jour 3) et (n = 3) (Jour 6)).

Symbole du gène	Jour 3		Jour 6	
	Induction	P-value	Induction	P-value
Gm27817	87,4	1,38E-02	42,6	3,54E-03
Cd164l2	73,5	1,52E-02	24,6	7,93E-03
Gm10451	69,4	1,12E-03	69,4	5,22E-03
Ces1d	67,9	2,46E-02	54,8	1,88E-02
Rps18-ps6	51,1	2,42E-03	63,5	3,59E-03
Rps18-ps5	44,4	1,07E-02	48,1	9,06E-03
Sgk3	44,2	3,75E-06	61,1	9,68E-03
Krt13	43,1	7,40E-03	9,2	1,11E-02
Hoxa13	35,4	1,53E-05	25,2	4,45E-05
Hoxa11os	28,2	2,45E-05	30,9	7,01E-03
Gm8909	28,1	1,23E-02	26,9	5,42E-04
H2-Q4	25,0	1,27E-03	18,6	1,26E-03
Ces1e	22,3	1,87E-03	18,0	1,61E-02
Cdo1	19,4	2,91E-03	46,6	1,32E-02
Padi2	18,5	5,54E-03	21,1	1,73E-02
Arg2	17,3	8,02E-04	34,6	1,30E-02
Dusp22	17,1	1,62E-03	15,6	2,34E-05
Gm27454	16,2	8,58E-03	61,4	3,11E-02
Cldn8	15,5	5,38E-03	6,7	1,99E-03
Cpm	14,5	2,33E-02	12,0	6,14E-03
Gm11127	14,1	7,48E-05	12,2	1,57E-02
Efna2	14,1	7,00E-03	9,1	3,67E-03
Slc26a3	13,7	1,61E-02	9,9	2,72E-02
H2-DMb1	13,4	3,01E-02	10,1	1,15E-02
Adora2b	13,3	2,58E-02	11,3	1,06E-02
Hoxa10	12,5	1,50E-04	17,9	4,82E-05
Hoxa9	12,3	4,35E-04	20,9	3,05E-05
Itga5	11,5	2,34E-06	10,0	2,33E-03
H2-Q7	10,8	3,56E-03	10,5	8,37E-04
Fgl1	10,6	1,12E-02	4,9	2,06E-03
Bnip3	10,4	5,77E-03	13,4	8,65E-03
Sardh	9,9	3,32E-02	11,4	1,57E-03

Gstm7	9,8	1,60E-02	5,3	2,13E-02
Gsdmc	9,0	2,49E-02	13,6	1,73E-02
Adh1	8,8	4,05E-03	5,5	2,64E-04
Ctse	8,8	3,05E-02	12,4	3,40E-03
Gsdmc4	8,4	2,35E-02	16,7	1,82E-02
B3galt5	8,1	3,45E-03	13,2	3,47E-04
Mgmt	8,0	1,10E-03	6,6	6,59E-05
P4ha2	8,0	4,47E-05	7,5	1,03E-03
Gstm6	7,9	3,29E-03	5,4	2,43E-07
Gatm.b	7,9	1,23E-02	12,7	3,26E-02
Gatm	7,9	1,23E-02	12,7	3,26E-02
Urah	7,7	1,36E-02	5,4	1,25E-03
Dmbt1	7,7	1,32E-04	12,8	5,84E-03
Tsgal0	7,6	1,53E-03	6,5	4,65E-06
Nrep	6,1	2,18E-02	4,3	1,17E-02
Acot1	5,9	1,93E-02	6,6	8,59E-03
Nefh	5,5	4,81E-02	4,4	3,00E-02
Lpcat2	5,1	1,05E-02	4,6	1,11E-03
Fcgrt	4,9	5,12E-07	3,0	4,63E-03
Mapre3	4,7	1,33E-03	4,9	4,48E-04
Aldoc	4,7	3,04E-04	3,4	1,43E-03
Msr2	4,7	1,04E-04	2,7	9,73E-04
Acot2	4,7	1,28E-05	1,8	1,36E-02
Gstm5	4,6	4,96E-04	3,0	5,23E-04
Chgb	4,6	4,87E-06	3,9	2,49E-02
Pfkm	4,4	1,57E-03	4,1	4,14E-03
Ifi27	4,3	9,09E-03	2,5	1,40E-04
Cers4	4,3	1,23E-02	2,9	1,13E-02
Hmgcs2	4,3	1,09E-03	2,9	1,28E-03
Prpf40b	4,3	1,28E-02	3,6	1,11E-04
Cbr2	4,2	2,77E-02	5,3	2,76E-02
Ada	4,1	2,79E-04	5,7	8,50E-04
Ugt2b5	3,9	3,07E-02	6,8	4,21E-02
Mttp	3,9	5,36E-03	3,3	5,22E-06
Gstt1	3,9	1,31E-02	2,8	2,29E-02
Fam174b	3,9	9,77E-04	2,8	4,21E-03
Adhfe1	3,9	2,14E-03	5,2	1,23E-02
Tmem218	3,9	6,30E-04	3,5	2,52E-05
H2-Q10	3,9	8,32E-03	4,3	2,63E-03

P4ha1	3,8	1,48E-03	4,4	1,82E-04
Gm2a	3,7	1,69E-03	3,0	1,76E-03
Slc35f2	3,7	4,92E-02	9,4	2,12E-02
Plod1	3,7	5,98E-05	2,5	6,47E-03
Prss16	3,7	4,78E-04	3,9	9,34E-05
Ces2g	3,6	1,50E-02	2,5	2,69E-02
Khk	3,6	3,56E-04	2,7	7,56E-04
Fgf15	3,6	1,46E-03	3,1	1,03E-03
Gm43672	3,6	9,82E-04	2,4	1,98E-02
Iyd	3,6	6,98E-03	3,2	8,99E-03
Ldlrad3	3,6	1,37E-03	3,4	2,54E-04
Angptl6	3,5	1,94E-03	2,4	6,17E-03
Lrrc8e	3,5	7,60E-04	3,4	9,66E-04
Mfge8	3,5	4,64E-03	2,8	2,47E-02
Cox7a1	3,5	4,86E-03	5,4	3,89E-04
Aldh6a1	3,5	3,43E-04	2,9	6,86E-03
Slc46a1	3,5	9,16E-04	2,0	5,01E-03
Pigr	3,5	7,97E-04	2,8	2,52E-04
Ndrgr2	3,4	9,60E-03	2,1	2,41E-03
Tmem53	3,4	4,58E-03	3,0	2,41E-03
Pld3	3,3	1,19E-04	2,3	4,02E-03
H2ac19	3,3	4,82E-02	1,5	4,21E-02
Dbp	3,2	1,89E-04	3,4	1,20E-02
Hagh	3,2	1,44E-04	3,3	1,34E-03
Cd320	3,2	2,49E-04	3,1	5,31E-04
Egln3	3,2	2,90E-03	3,8	8,44E-04
H2aw	3,2	4,66E-03	2,0	2,80E-03
Inpp4a	3,2	2,76E-03	3,4	5,75E-03
Tppp	3,2	3,18E-03	3,1	1,38E-02
Fcna	3,2	1,37E-02	2,5	8,39E-03
Rab8b	3,2	4,29E-04	2,8	7,93E-04
Pecr	3,1	4,51E-04	2,6	1,12E-02
Vav3	3,1	2,88E-02	4,4	6,60E-03
Glul	3,1	2,02E-02	2,0	9,87E-03
Ttll1	3,1	3,53E-04	2,0	2,72E-03
Dnajb4	3,1	5,54E-05	3,8	1,14E-03
Ndrgr1	3,1	2,63E-03	2,2	8,73E-03
Gstm3	3,1	3,21E-02	5,2	4,43E-02
Ugt1a7c	3,0	6,26E-03	2,8	7,76E-04

Lrpap1	3,0	5,95E-03	2,6	9,78E-04
Ctsl	3,0	6,99E-04	1,9	2,49E-03
Enpp5	3,0	1,89E-03	2,2	1,27E-03
Ecm1	3,0	9,24E-03	2,3	8,18E-04
Ahcyl2	3,0	2,13E-02	2,8	4,06E-03
Lgmn	2,9	7,03E-03	2,2	1,49E-03
H2-DMa	2,9	8,53E-03	5,0	1,73E-02
Ccdc126	2,9	4,12E-03	2,7	1,70E-03
Gng10	2,8	1,64E-03	3,5	7,11E-03
Bbs2	2,8	2,04E-03	2,8	2,75E-03
Il11ra1	2,8	1,02E-04	2,3	5,56E-03
Tstd1	2,8	9,09E-03	2,6	3,16E-02
Galk1	2,8	8,14E-03	3,5	1,44E-02
Ugt1a6a	2,8	1,80E-02	3,9	1,52E-03
Gm11496	2,8	1,32E-03	2,2	1,03E-02
Hsd12	2,7	1,69E-03	3,0	2,27E-03
Hif1a	2,7	2,86E-03	4,3	4,20E-03
Dusp23	2,7	2,49E-03	2,7	6,03E-05
Rad9b	2,7	1,82E-02	2,2	1,72E-02
Higd1a	2,7	4,57E-03	2,8	1,24E-02
Pde9a	2,7	1,76E-03	2,6	1,75E-04
Slc9a2	2,7	5,68E-03	2,7	1,33E-02
Fggy	2,7	8,39E-03	2,1	7,56E-03
Chchd6	2,7	6,83E-04	3,8	1,05E-02
Mgat4c	2,7	1,23E-03	2,9	1,55E-03
Acadv1	2,7	2,61E-04	2,9	4,76E-03
Acad10	2,7	2,17E-02	3,5	1,21E-04
Oit1	2,6	1,39E-02	2,7	6,15E-03
Mt1	2,6	2,28E-02	4,7	2,33E-04
Fam13a	2,6	4,90E-03	2,1	7,32E-03
Pacsin3	2,6	6,97E-03	2,3	4,71E-03
H2ac18	2,6	2,51E-03	2,2	3,98E-03
Ero1l	2,6	2,25E-02	3,2	3,65E-02
Blvrb	2,6	1,51E-02	3,2	1,60E-02
Nr1d1	2,6	3,00E-03	3,1	4,69E-03
Trp53i13	2,6	1,03E-02	2,2	1,26E-02
Fam114a1	2,6	6,37E-04	2,3	6,57E-05
Egfl7	2,5	7,26E-03	3,5	1,30E-02
Tha1	2,5	2,75E-03	2,2	1,02E-03

Gpt	2,5	2,01E-03	2,7	1,44E-02
Slc25a20	2,5	1,01E-04	2,8	1,61E-02
Hspa2	2,5	2,24E-05	2,4	5,04E-03
Bsg	2,5	4,58E-04	2,6	4,50E-05
Sdr42e1	2,5	9,88E-03	2,9	2,22E-02
Aldh1a7	2,5	4,58E-03	7,5	9,03E-03
Dusp1	2,5	2,28E-02	2,3	7,92E-03
Lipg	2,5	3,26E-03	2,2	4,49E-02
Ak4	2,5	3,00E-02	2,4	3,87E-02
Pkig	2,5	2,35E-03	2,8	1,41E-03
Abhd6	2,5	1,90E-03	2,4	7,34E-03
Pycr1	2,5	2,74E-02	3,2	8,26E-03
Glod5	2,4	6,86E-03	2,4	9,19E-03
Slc4a7	2,4	1,34E-04	2,7	5,65E-05
Papss2	2,4	3,81E-03	3,3	1,65E-02
Tpd52l1	2,4	5,07E-03	4,1	1,66E-03
Fkbp11	2,4	2,01E-02	2,2	1,41E-03
Ldhd	2,4	4,91E-03	2,6	1,43E-02
Ociad2	2,4	1,64E-03	2,3	1,82E-04
Mpv17l	2,4	2,82E-03	3,6	2,07E-02
Dnajc28	2,4	3,08E-03	2,1	3,24E-02
Fgfbp1	2,4	7,73E-03	2,6	2,48E-02
B230118H07Rik	2,4	3,01E-03	2,3	2,33E-03
Ppp1r3b	2,3	2,44E-02	2,6	1,25E-02
Gm8797	2,3	4,66E-04	2,0	5,89E-04
Hivep3	2,3	1,64E-02	2,1	5,48E-03
Isoc2b	2,3	6,25E-03	2,1	4,30E-03
Me2	2,3	3,18E-03	2,8	1,87E-02
Gstm4	2,3	1,44E-03	2,2	6,20E-03
Mboat2	2,3	7,42E-03	3,4	9,34E-03
Sfxn5	2,3	1,49E-03	2,0	6,58E-03
4931406C07Rik	2,3	3,67E-05	2,2	1,65E-03
Ces2c	2,3	1,13E-02	2,3	4,16E-02
Arntl	2,3	3,39E-03	2,0	4,14E-04
Lrfr3	2,3	4,86E-03	2,0	7,31E-04
Gm5617	2,3	3,08E-02	2,9	6,51E-03
Sgcb	2,3	1,30E-03	2,3	1,11E-02
Cmtm7	2,2	4,00E-02	2,8	3,37E-02
Ces2e	2,2	8,10E-03	2,3	1,21E-02

Slc30a10	2,2	2,09E-02	2,1	3,93E-02
Ciart	2,2	8,31E-03	2,2	2,17E-04
Hac11	2,2	2,48E-03	2,8	2,46E-02
Zhx3	2,2	1,10E-03	2,7	6,91E-03
Prss36	2,2	2,52E-02	2,1	4,83E-03
Clybl	2,2	2,56E-03	2,2	3,65E-03
Cpeb4	2,2	2,33E-03	2,1	1,31E-02
Vwa8	2,2	2,04E-03	2,4	1,70E-03
Aga	2,1	1,82E-03	2,1	1,72E-02
Sdcbp2	2,1	2,17E-02	2,3	1,33E-03
St6galnac4	2,1	1,05E-02	2,0	1,23E-02
Csad	2,1	5,81E-04	2,3	2,79E-03
Trim45	2,1	7,95E-04	2,3	1,84E-03
Gm20300	2,1	4,62E-03	2,3	4,70E-03
Ugt2b34	2,0	3,78E-04	2,2	1,34E-02
Slc5a6	2,0	8,57E-03	3,2	1,64E-03
Tbl1xr1	2,0	1,02E-03	2,0	4,89E-03
Zswim7	2,0	1,03E-03	2,3	1,15E-02
Mif	2,0	2,88E-03	2,4	6,69E-03
Lyplal1	2,0	2,51E-02	2,4	5,35E-03
Cstf2t	2,0	1,02E-02	2,2	1,11E-03
Pcgf5	2,0	5,34E-05	2,5	2,71E-03

License pour l'utilisation des figures

SPRINGER NATURE

Thank you for your order!

Dear Miss. Mia Lecours,

Thank you for placing your order through Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

Order Summary

Licensee: Université de Sherbrooke
Order Date: Dec 9, 2020
Order Number: 4964900742152
Publication: Nature Reviews Immunology
Title: Regional specialization within the intestinal immune system
Type of Use: Thesis/Dissertation
Order Total: 0.00 CAD

View or print complete [details](#) of your order and the publisher's terms and conditions.

Sincerely,

Copyright Clearance Center

Tel: +1-855-239-3415 / +1-978-646-2777
customercare@copyright.com
<https://myaccount.copyright.com>



RightsLink®